

2e édition

Biochimie

en 84 fiches

Françoise Quentin
Paul-françois Gallet
Michel Guilloton
Bernadette Quintard



Les auteurs tiennent à remercier tout particulièrement Cyril Quentin, Florence Gallet, Michèle Guilloton et Pierre Quintard pour leur aide continuelle, leurs conseils, leur patience et leur compassion durant la réalisation du présent ouvrage.

5 rue Laromiguière, 75005 Paris
www.dunod.com

ISBN 978-2-10-073922-6

Table des matières

Tableau périodique des éléments

COUCHES n (nombre quantique principal)	REMPLISSAGE DES SOUS-COUCHES s, p, d, f																	
	(n) s¹	s²	(n – 1) d¹	d²	d³	d⁴	d⁵	d⁶	d⁷	d⁸	d⁹	d¹⁰	(n) p¹	p²	p³	p⁴	p⁵	p⁶
1	$^{1}_{1}$H hydrogène 1,0												*Cas particulier He: 1 s^2*					$^{4}_{2}$He hélium 4,0
2	$^{7}_{3}$Li lithium 6,9	$^{9}_{4}$Be béryllium 9,0											$^{11}_{5}$B bore 10,8	$^{12}_{6}$C carbone 12,0	$^{14}_{7}$N azote 14,0	$^{16}_{8}$O oxygène 16,0	$^{19}_{9}$F fluor 19,0	$^{20}_{10}$Ne néon 20,2
3	$^{23}_{11}$Na sodium 23,0	$^{24}_{12}$Mg magnésium 24,3											$^{27}_{13}$Al aluminium 27,0	$^{28}_{14}$Si silicium 28,1	$^{31}_{15}$P phosphore 31,0	$^{32}_{16}$S soufre 32,1	$^{35}_{17}$Cl chlore 35,5	$^{40}_{18}$Ar argon 39,9
4	$^{39}_{19}$K potassium 39,1	$^{40}_{20}$Ca calcium 40,1	$^{45}_{21}$Sc scandium 45,0	$^{48}_{22}$Ti titane 47,9	$^{51}_{23}$V vanadium 50,9	$^{52}_{25}$Cr chrome 52,0	$^{55}_{25}$Mn manganèse 54,9	$^{56}_{26}$Fe fer 55,8	$^{59}_{27}$Co cobalt 58,9	$^{58}_{28}$Ni nickel 58,7	$^{63}_{29}$Cu cuivre 63,5	$^{64}_{30}$Zn zinc 65,4	$^{69}_{31}$Ga gallium 69,7	$^{74}_{32}$Ge germanium 72,6	$^{75}_{33}$As arsenic 74,9	$^{80}_{64}$Se sélénium 79,0	$^{79}_{35}$Br brome 79,9	$^{84}_{36}$Kr krypton 83,8
5	$^{85}_{37}$Rb rubidium 85,5	$^{88}_{38}$Sr strontium 87,6	$^{89}_{39}$Y yttrium 88,9	$^{90}_{40}$Zr zirconium 91,2	$^{93}_{41}$Nb niobium 92,9	$^{98}_{42}$Mo molybdène 95,9	$^{98}_{43}$Tc technétium 98,9	$^{102}_{44}$Ru ruthénium 101,1	$^{103}_{45}$Rh rhodium 102,9	$^{106}_{46}$Pd palladium 106,4	$^{107}_{47}$Ag argent 107,9	$^{114}_{48}$Cd cadmium 112,4	$^{115}_{49}$In indium 114,8	$^{120}_{50}$Sn étain 118,7	$^{121}_{51}$Sb antimoine 121,7	$^{130}_{52}$Te tellure 127,6	$^{127}_{53}$I iode 126,9	$^{129}_{54}$Xe xénon 131,3
6	$^{133}_{55}$Cs césium 132,9	$^{138}_{56}$Ba baryum 137,3	L *	$^{180}_{72}$Hf hafnium 178,5	$^{181}_{73}$Ta tantale 180,9	$^{184}_{74}$W tungstène 183,9	$^{187}_{75}$Re rhénium 186,2	$^{192}_{76}$Os osmium 190,2	$^{193}_{77}$Ir iridium 192,2	$^{195}_{78}$Pt platine 195,1	$^{197}_{79}$Au or 197,0	$^{202}_{80}$Hg mercure 200,6	$^{205}_{81}$Tl thallium 204,4	$^{208}_{82}$Pb plomb 207,2	$^{209}_{83}$Bi bismuth ≈ 209,0	$^{210}_{84}$Po polonium ≈ 209	$^{210}_{85}$At astate ≈ 210	$^{222}_{86}$Rn radon ≈ 222
7	$^{223}_{87}$Fr francium ≈ 223	$^{226}_{88}$Ra radium 226	A **	$^{267}_{104}$Rf rutherfordium ≈ 267	$^{268}_{105}$Db dubnium ≈ 268	$_{106}$Sg seaborgium ≈ 271	$_{107}$Bh bohrium ≈ 272	$_{108}$Hs hassium ≈ 277	$_{109}$Mt meitnerium ≈ 276	$_{110}$Ds darmstadtium ≈ 281	$_{111}$Rg roentgenium ≈ 280							

Légende : $^{A}_{Z}$X, nom, M
- A : nombre de masse de l'isotope le plus abondant
- Z : nombre de charge (ou numéro atomique)
- X : symbole de l'élément
- M : masse atomique moyenne (Da)

Sous-couches	(n – 2) f¹	f²	f³	f⁴	f⁵	f⁶	f⁷	f⁸	f⁹	f¹⁰	f¹¹	f¹²	f¹³	f¹⁴	(n – 1) d¹
* Lanthanides	$^{139}_{57}$La lanthane 138,9	$^{140}_{58}$Ce cérium 140,1	$^{141}_{59}$Pr praséodyme 140,9	$^{142}_{60}$Nd néodyme 144,2	$^{146}_{61}$Pm prométhium ≈ 145	$^{152}_{62}$Sm samarium 150,4	$^{153}_{63}$Eu europium 152,0	$^{158}_{64}$Gd gadolinium 157,2	$^{159}_{65}$Tb terbium 158,9	$^{164}_{66}$Dy dysprosium 162,5	$^{165}_{67}$Ho holmium 164,9	$^{166}_{68}$Er erbium 167,3	$^{169}_{69}$Tm thulium 168,9	$^{174}_{70}$Yb ytterbium 173,0	$^{175}_{71}$Lu lutétium 175,0
** Actinides	$^{227}_{89}$Ac actinium ≈ 227	$^{232}_{90}$Th thorium 232,0	$^{231}_{91}$Pa protactinium 231,0	$^{238}_{92}$U uranium 238,0	$^{237}_{93}$Np neptunium ≈ 237	$^{244}_{94}$Pu plutonium ≈ 244	$^{243}_{95}$Am américium ≈ 243	$^{247}_{96}$Cm curium ≈ 247	$^{247}_{97}$Bk berkélium ≈ 247	$^{251}_{98}$Cf californium ≈ 251	$^{254}_{99}$Es einsteinium ≈ 254	$^{257}_{100}$Fm fermium ≈ 257	$^{258}_{101}$Md mandélévium ≈ 258	$^{259}_{102}$No nobélium ≈ 259	$^{260}_{103}$Lr lawrencium ≈ 260

1 Biochimie cellulaire

Mots clés

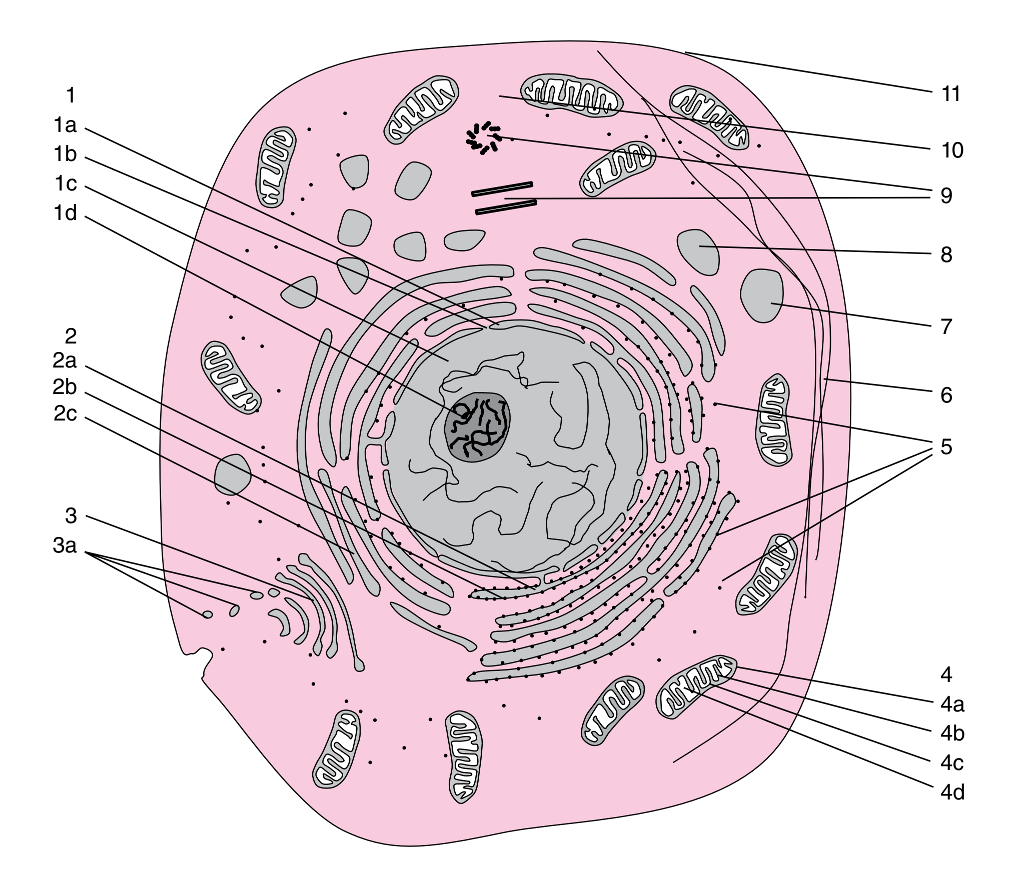
Cellule eucaryote animale, organisation cellulaire, organite, compartimentation

1. OBJECTIF

Décrire l'organisation d'une cellule eucaryote, la constitution des différentes structures et leur participation au métabolisme cellulaire.

2. SCHÉMA D'UNE CELLULE EUCARYOTE ANIMALE TYPIQUE

La forme et la taille des cellules sont très variables selon le type de tissu : diamètre d'un hépatocyte, ~25 µm ; longueur de certains neurones de girafe, ~3 m ; de même, le nombre de chaque type d'organite : ~1000 mitochondries dans un hépatocyte, plusieurs centaines de noyaux dans une cellule de muscle strié squelettique, mais aucun organite dans un globule rouge de primate.



N°	Structure	Description sommaire	Rôle ou activité typique
1	**Noyau**	Diamètre 5–10 µm.	Stockage, réplication, transcription d'ADN
1a	**Enveloppe nucléaire**	Double membrane ; membrane interne doublée par la lamina.	Délimitation du noyau. Organisation de la chromatine.
1b	**Pore nucléaire**	~ 4 000 pores formés de protéines. Diamètre extérieur 150 nm.	Contrôle des échanges nucléoplasme $\rightleftharpoons$ réticulum endoplasmique rugueux, cytoplasme.
1c	**Nucléoplasme**	Chromatine, ARN ; ADN polymérase, ARN polymérases.	Réplication d'ADN ; synthèse et maturation d'ARN.
1d	**Nucléole**	Chromatine, ARNr, ARN polymérase.	Synthèse et maturation des ARNr 28S, 18S, 5,8S ; assemblage des ribosomes.
2	**Réticulum endoplasmique**	Réseau membranaire déterminant des citernes et des sacs aplatis ; en continuité avec l'enveloppe du noyau.	Synthèse et transport de protéines ; synthèse des lipides.
2a	**Lumière du réticulum**	Intérieur du réticulum.	Modifications post-traductionnelles de protéines.
2b	**Réticulum rugueux (RER)**	Ribosomes disposés sur la face exposée au cytoplasme.	Synthèse et transport de protéines.
2c	**Réticulum lisse (REL)**	Absence de ribosomes.	Synthèse des lipides ; assemblage des lipoprotéines (foie).
3	**Appareil de Golgi**	Saccules membranaires empilés.	Glycosylation et adressage de protéines.
3a	**Vésicules de sécrétion**	Issues de bourgeonnements membranaires de l'appareil de Golgi.	Sécrétion de protéines.
4	**Mitochondrie**	L=1 à 10 µm, Ø = 0,5 à 1 µm ; deux membranes, deux compartiments.	Métabolisme oxydatif, production d'ATP.
4a	**Membrane externe mitochondriale**	60 % protéines, 40 % lipides ; présence de **porines**.	Échanges entre le cytosol et la mitochondrie. **Monoamine oxydases**.
4b	**Espace intermembranaire**	~ 5 % du volume mitochondrial ; pH = 7.	Cytochrome c, **protéines pro**- et **anti-apoptotiques**, **pro-caspases**.
4c	**Membrane interne mitochondriale**	75 % protéines, 25 % lipides (cardiolipide) ; nombreux replis.	Oxydations phosphorylantes (chaîne respiratoire, ATP synthase).
4d	**Matrice mitochondriale**	ADN, ARN, ribosomes mitochondriaux, enzymes ; pH = 8	Réplication d'ADN, transcription, cycle de Krebs, β-oxydation des acides gras.
5	**Ribosomes**	Complexes d'ARNr/protéines (4200 kDa) ; libres ou fixés sur le RER.	Synthèse des protéines (catalyse assurée par l'ARN 28S).
6	**Cytosquelette**	Protéines : microtubules, filaments d'actine, filaments intermédiaires.	Contrôle de la forme et de la structure interne de la cellule.
7	**Lysosome**	Ø = 0,2 à 0,5 µm, pH acide (3,5 – 5).	Hydrolases acides (protéases, nucléases, glycosidases, lipases).
8	**Peroxysome**	Ø = 0,2 à 0,5 µm.	Catalase, peroxydases.
9	**Centrosome**	Deux centrioles orthogonaux, matériel péricentriolaire.	Formation de l'appareil mitotique au cours de la division cellulaire.
10	**Hyaloplasme**	Phase liquide. Enzymes solubles, glycogène, globules lipidiques.	Glycolyse, voie des pentoses phosphate, synthèse des lipides.
11	**Membrane plasmique**	Phospholipides, cholestérol, protéines membranaires.	Délimitation de la cellule, échanges, communication

2 Éléments constitutifs de la matière vivante

Mots clés

Organique, minéral, tableau périodique des éléments, éléments majeurs et mineurs, originalité du vivant, carbone

1. LA MATIÈRE VIVANTE

Un être vivant contient surtout de l'eau : 95 % de la masse d'une laitue, 65 % de la masse d'un Homme. Cette eau solvate de nombreux ions et molécules.

La matière sèche restante est constituée de molécules organiques et minérales. Dans un être vivant, toutes les molécules contenant du **carbone** sont qualifiées d'organiques, à l'exception du CO_2 et des ions dérivés, HCO_3^-, (hydrogénocarbonate ou bicarbonate) et CO_3^{2-} (carbonate). Les autres molécules appartiennent donc au règne minéral.

Les molécules organiques comprennent les protéines, les glucides, les lipides, les acides nucléiques, les coenzymes ainsi que les vitamines.

Les molécules minérales sont principalement des ions impliqués dans des processus physiologiques, par exemple l'établissement des potentiels transmembranaires (H^+, Na^+, K^+), ou dans certaines réactions enzymatiques.

La classification périodique ci-dessous illustre la faible diversité des éléments chimiques contenus dans la matière vivante (une version plus détaillée de cette classification est consultable en page liminaire).

D'autre part, l'abondance des éléments est très variable : près de 60 % de la masse pour l'oxygène, environ 0,2 % pour le soufre.

H																	He
Li	Be												C	N	O	F	Ne
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba	*	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
Fr	Ra	**	Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt	Ds	Rg							

Abondance de l'élément en % de la masse de matière : Supérieure à 10 (H, C, O) — Entre 10 et 1 (N, P, Ca) — Entre 1 et 0,01 (Na, Mg, K, S, Cl)

2. LES ÉLÉMENTS MAJEURS

Six éléments, C, H, O, N, S et P, constituent 95 % de la matière sèche. Le **carbone** représente plus de 50 % de la masse de la matière sèche. Il se combine à l'**hydrogène**, l'**oxygène**

et l'**azote** dans les molécules organiques. Cependant, l'hydrogène et l'oxygène restent les éléments les plus abondants de la matière non déshydratée, du fait de la forte proportion d'eau dans la matière vivante. Le **phosphore** est lui aussi un élément majeur. Il rentre dans la composition des nucléosides phosphate, comme l'ATP. Quant au **soufre**, il est présent notamment dans deux acides aminés, la cystéine et la méthionine.

Ces 6 éléments, ajoutés aux ions $\mathbf{Na^+}$, $\mathbf{Ca^{2+}}$, $\mathbf{K^+}$, $\mathbf{Mg^{2+}}$ et $\mathbf{Cl^-}$, représentent alors **99** % de la masse de la matière sèche.

3. LES ÉLÉMENTS MINEURS

Les autres éléments ne représentent donc que **1 %** de la matière sèche. Certains demeurent néanmoins indispensables : Fe dans l'hémoglobine, I pour la thyroxine, Cu, Mn, Se, etc. On leur donne également le nom d'oligo-éléments.

4. L'ORIGINALITÉ DE LA MATIÈRE VIVANTE

Élément	Abondance relative en % d'atomes				
	Croûte terrestre	Atmosphère terrestre	Océans	Homme	Végétaux
H	0,22		66	61	47,9
O	47	21	33	24,1	21,9
C	0,19	0,0015	0,0014	12,6	27,9
N		78		1,4	1,1
Mg	2,2		0,033	0,008	0,13
Si	28				
Fe	4,5				
S			0,017	0,05	0,1
Al	8				
Ca	3,5		0,006	0,24	0,25
Na	2,5		0,28	0,03	
Ti	0,46				
P				0,25	0,1
K			0,006	0,06	0,5
Cl			0,33	0,03	
Ar		0,45			

Comme ce tableau l'illustre, tous les éléments de la matière vivante existent dans le monde inerte (croûte terrestre, atmosphère, océans). Cependant, leurs proportions diffèrent notablement. Seul le carbone est beaucoup plus abondant dans le vivant que dans le monde inerte.

Il existe donc bien une chimie propre au monde vivant ou biochimie. Ses réactions aboutissent à des produits qui lui sont propres : ce sont les constituants de la matière vivante.

3 Masse des atomes

Mots clés

Nombre de masse, masse atomique, masse molaire, distribution isotopique

1. OBJECTIF

Définir le **nombre de masse**, la **masse atomique** et la **masse molaire** d'un élément. On prendra pour exemple le carbone, dont l'isotope ^{12}C sert d'étalon pour établir les masses atomiques des différents éléments du tableau périodique.

2. NOMBRE DE MASSE

Le nombre de masse d'un atome désigne le nombre de nucléons (protons + neutrons) que détient son noyau. Ce nombre apparaît en exposant du symbole atomique des isotopes de chaque élément. On trouve dans la nature trois isotopes du carbone :

$$^{12}C \quad ^{13}C \quad ^{14}C$$

Outre les 6 protons identifiant le carbone, les noyaux de ces trois isotopes contiennent respectivement 6, 7 et 8 neutrons.

3. MASSE ATOMIQUE, MASSE ATOMIQUE MOYENNE D'UN ÉLÉMENT

La masse atomique indique la masse d'un atome (noyau + électrons). Dans le système international d'unités (SI) la masse s'exprime en kg ; la masse d'un atome de ^{12}C est égale à 1,992647 10^{-26} kg.

Pour des raisons de commodité on préfère exprimer les masses atomiques en terme de masse atomique unifiée (symbole : u ou uma) dont l'unité, par définition, est le douzième de la masse de l'atome de ^{12}C, soit 1,66054 10^{-27} kg. On donne également à cette unité le nom de **Dalton** (abréviation Da) ; cet usage est très répandu en biochimie, plus particulièrement pour indiquer les masses des macromolécules (voir Fiche 4). La masse atomique du ^{12}C est donc **exactement** égale à 12 u ou 12 Da. Les masses atomiques des isotopes ^{13}C et ^{14}C sont respectivement égales à 13,0034 et 14,0032 Da.

Toutefois, le tableau périodique des éléments fait apparaître, sous le symbole de chaque élément, non la masse atomique, mais la **masse atomique moyenne** (synonyme de **poids atomique standard**). C'est un nombre qui tient compte, pour un élément particulier, des **masses** et des **abondances relatives** de ses différents isotopes présents dans un échantillon de référence. La masse atomique moyenne du carbone est égale à 12,0107 Da ; cette valeur tient compte de l'abondance relative du ^{12}C, 98,93 %, et de celle du ^{13}C, 1,07 % ; l'abondance relative du ^{14}C, de l'ordre de 10^{-12} %, est considérée comme négligeable :

$$\frac{12 \times 98{,}93}{100} + \frac{13{,}0034 \times 1{,}07}{100} = 12{,}0107 \text{ Da}$$

4. MASSE MOLAIRE D'UN ÉLÉMENT

Le concept de masse molaire répond au besoin d'unités adaptées à la manipulation de **quantités pondérales de matière**. Dans ce but, on a défini la **mole** (abréviation mol) qui désigne une quantité de matière qui renferme un nombre d'entités (atomes, molécules, électrons, etc.) égal au **nombre d'Avogadro** : $N_A = 6{,}02214\ 10^{23}\ \text{mol}^{-1}$.

La **masse molaire d'un élément** est donc égale au produit de sa masse atomique (kg) par $6{,}02214\ 10^{23}$, le nombre d'atomes présents dans une mole. Ainsi, la masse molaire du ^{12}C est égale à :

$$1{,}992647\ 10^{-26} \times 6{,}02214\ 10^{23} = 0{,}012\ \text{kg.mol}^{-1}$$

L'usage veut que l'on exprime la masse molaire en grammes par mole soit, pour le ^{12}C, **exactement** 12 g.mol^{-1}.

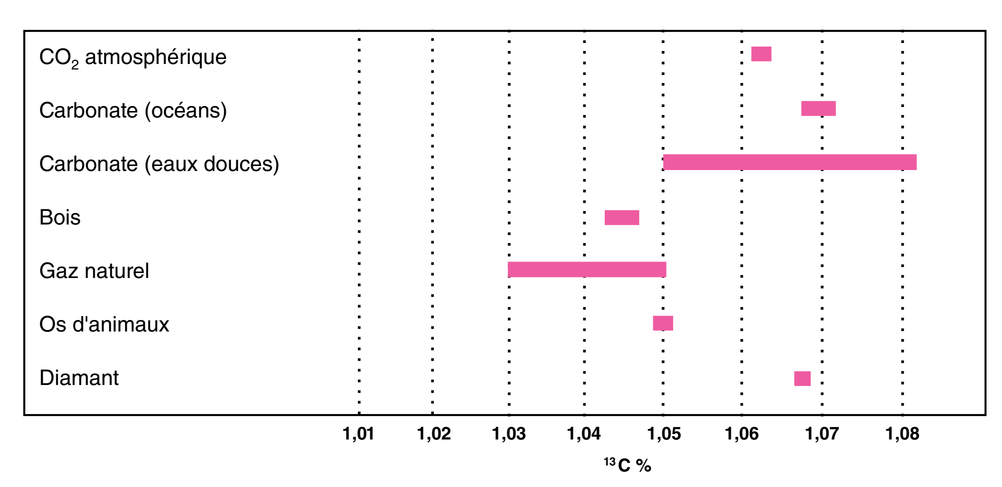
En pratique, on utilise la valeur de 12,0107 g.mol^{-1} (**masse molaire moyenne**) pour tenir compte, de nouveau, de la présence de ^{13}C ; le calcul de la masse molaire moyenne est calqué sur le calcul de la masse atomique moyenne du paragraphe précédent.

5. POUR ALLER PLUS LOIN

En mesurant l'abondance relative des isotopes d'un élément donné, on s'aperçoit que les résultats sont légèrement différents en fonction de la nature des échantillons étudiés : animal, plante, prélèvement de sol, prélèvement d'eau douce ou salée, fossile, etc.

Ces différences viennent du fait que tout processus, physique ou chimique, est influencé par la **masse** des atomes ou des groupes d'atomes mis en jeu.

Par exemple, les plantes incorporent $^{13}CO_2$ un peu moins rapidement que $^{12}CO_2$; aussi, l'abondance relative du ^{13}C des plantes est-elle un peu plus faible que celle du CO_2 atmosphérique, et cette abondance relative est variable en fonction de la plante étudiée ou même en fonction des conditions climatiques. Quelques exemples choisis illustrent la diversité des abondances relatives du ^{13}C :



Les abondances relatives des isotopes nous renseignent donc sur l'origine et sur l'histoire d'un échantillon ; aussi, les techniques d'analyse isotopique sont-elles largement utilisées dans des domaines variés comme la recherche en paléontologie, la médecine légale, la répression des fraudes ou le contrôle anti-dopage (Fiche 4).

4 Masse des molécules

Mots clés

Masse moléculaire, masse molaire, masses molaires moyennes

1. OBJECTIF

Définir la **masse moléculaire** et la **masse molaire** d'une molécule. Comprendre pourquoi les masses molaires de certaines macromolécules ont des valeurs moyennes qui par ailleurs dépendent des méthodes de mesure.

2. MASSE MOLÉCULAIRE

On entend par masse moléculaire, la masse d'une molécule de la substance considérée. On calcule la masse moléculaire en effectuant la somme des masses des atomes ou, plus précisément, des **isotopes** qui composent cette molécule. La masse d'une molécule d'eau (H_2O) constituée de ^1H et ^{16}O sera donc égale à :

$$1{,}0078 \times 2 + 15{,}9949 = 18{,}0105 \text{ Da}$$

Il existe dans la nature trois isotopes de l'hydrogène (^1H, ^2H, ^3H) et trois isotopes stables de l'oxygène (^{16}O, ^{17}O, ^{18}O) ; on peut écrire un grand nombre de types (isotopomères) de molécules d'eau : $^2H_2{}^{16}O$, $^3H_2{}^{17}O$, $^2H^3H^{18}O$, etc., en tout 18 molécules dont les masses moléculaires pourront atteindre 24,03126 Da ($^3H_2{}^{18}O$).

Le nombre d'isotopomères de molécules plus complexes augmente bien sûr en fonction du nombre d'atomes. La distribution des isotopomères d'une molécule, variable selon l'origine et l'histoire des échantillons, est révélée par des techniques de **spectrométrie de masse**. Ces techniques sont utilisées en particulier pour différencier des molécules synthétiques de leurs homologues endogènes (par exemple, pour distinguer la testostérone synthétique de la testostérone endogène au cours d'un contrôle anti-dopage).

Dans la pratique, on utilisera la **masse moléculaire moyenne,** c'est-à-dire la somme des masses atomiques moyennes (Fiche 3) mentionnées dans le tableau périodique soit, pour l'eau : $1{,}0079 \times 2 + 15{,}9994 = 18{,}0152$ Da.

Les masses moléculaires des petites molécules rencontrées chez les êtres vivants sont de l'ordre de quelques centaines de Daltons : acides aminés, en moyenne 110 Da ; glucose, 180 Da ; triglycérides, en moyenne 850 Da ; stéroïdes, en moyenne 400 Da.

Les protéines ont des masses moléculaires nettement plus importantes ; on les exprime en kilodaltons ou kDa (1 kDa = 1 000 Da). Ces masses moléculaires iront d'environ 10 kDa (ribonucléase A, 12,5 kDa) à près de 10 000 kDa pour des complexes constitués d'un nombre important de chaînes polypeptidiques (le complexe de la pyruvate déshydrogénase humaine, composé de 260 chaînes polypeptidiques, possède une masse moléculaire d'environ 9 500 kDa).

3. MASSE MOLAIRE D'UNE MOLÉCULE

La masse molaire d'une molécule correspond à la masse d'un nombre de molécules égal au nombre d'Avogadro, $N_A = 6{,}022\ 10^{23} \cdot mol^{-1}$. Pour obtenir la masse molaire d'une molécule, on multipliera sa masse moléculaire moyenne par le nombre d'Avogadro (à moins que l'on ne doive calculer la masse molaire de l'un de ses isotopomères). La masse molaire de l'eau est donc 18,0152 $g \cdot mol^{-1}$, celle du glucose 180 $g \cdot mol^{-1}$, celle de la ribonucléase A 12 500 $g \cdot mol^{-1}$, etc.

4. UN GRAND NOMBRE DE MACROMOLÉCULES POSSÈDENT DES MASSES MOLAIRES APPROXIMATIVES

Un grand nombre de macromolécules n'ont pas de constitution précise. C'est le cas des lipoprotéines (Fiche 74), dont les teneurs en triglycérides, cholestérol libre, cholestérol estérifié et phospholipides sont variables, même à l'intérieur d'une même classe.

Autre exemple, les polysaccharides (Fiche 65) qui sont généralement constitués de chaînes de longueurs différentes. L'**héparine**, un **glycosaminoglycanne** doté de propriétés anticoagulantes, est effectivement très hétérogène ; cette substance est représentée par des chaînes de 10 à 100 unités glucidiques.

Par ailleurs, certaines protéines oligomériques, c'est-à-dire constituées de plusieurs chaînes polypeptidiques ou sous-unités, peuvent présenter différents états d'agrégation selon les conditions d'étude : concentration, température, pH, présence de ligands spécifiques, etc. ; leurs masses molaires seront donc sujettes à variation.
Dans tous les cas cités, les populations de molécules seront hétérogènes, et les mesures des masses molaires conduiront à des valeurs statistiques moyennes.

5 Concentration des solutés

Mots clés

Concentration molaire, concentration massique

1. CONCENTRATION MOLAIRE

La composition des solutions est donnée habituellement en termes de **concentration molaire**, c'est-à-dire, pour une espèce i en solution – un soluté – le nombre de moles n_i présentes dans une solution de volume V ; la concentration molaire est symbolisée indifféremment par C_i ou bien $[i]$:

$$C_i = [i] = \frac{n_i}{V}$$

Bien que l'unité de volume soit le m^3, on préfère utiliser le dm^3, ou litre. L'unité de concentration molaire est la mole par litre ou $mol \cdot L^{-1}$, en abrégé : M. Les molécules biologiques comme les métabolites (molécules du métabolisme), les enzymes, les hormones, etc. ont bien souvent des concentrations très faibles comparées à 1 $mol \cdot L^{-1}$; aussi, lorsque c'est plus pratique, on utilise les sous-unités de la mole :

Unité de concentration molaire (ou sous-unité)	Abréviations		Correspondance
$mol \cdot L^{-1}$	-	M	-
$millimol \cdot L^{-1}$	$mmol \cdot L^{-1}$	mM	1 mM = 10^{-3} M
$micromol \cdot L^{-1}$	$\mu mol \cdot L^{-1}$	µM	1 µM = 10^{-6} M
$nanomol \cdot L^{-1}$	$nmol \cdot L^{-1}$	nM	1 nM = 10^{-9} M
$picomol \cdot L^{-1}$	$pmol \cdot L^{-1}$	pM	1 pM = 10^{-12} M

2. CONCENTRATION MASSIQUE

On peut exprimer la concentration en unités de masse par litre. On parlera de **concentration massique** ou même de **concentration pondérale** de l'espèce i, notée ρ_i (ρ : la lettre grecque *rhô*), égale au quotient de la masse m_i dissoute dans un volume V :

$$\rho_i = \frac{m_i}{V}$$

Bien que l'unité de masse soit le kilogramme (kg), on indiquera le plus souvent la concentration en gramme par litre ($g \cdot L^{-1}$), voire en milligramme par litre ($mg \cdot L^{-1}$) ou en microgramme par litre ($\mu g \cdot L^{-1}$). Comme les volumes utilisés au laboratoire de biochimie sont très souvent inférieurs à 1 litre, on sera souvent amené à prendre en compte les concentrations massiques en masse de soluté par millilitre :

Concentration massique	Abréviation	Correspondances	
gramme · L^{-1}	$g \cdot L^{-1}$	-	$1\ g \cdot L^{-1} = 1\ mg \cdot mL^{-1}$
milligramme · L^{-1}	$mg \cdot L^{-1}$	$1\ mg \cdot L^{-1} = 10^{-3}\ g \cdot L^{-1}$	$1\ mg \cdot L^{-1} = 1\ \mu g \cdot mL^{-1}$
microgramme · L^{-1}	$\mu g \cdot L^{-1}$	$1\ \mu g \cdot L^{-1} = 10^{-6}\ g \cdot L^{-1}$	$1\ \mu g \cdot L^{-1} = 1\ ng \cdot mL^{-1}$
nanogramme · L^{-1}	$ng \cdot L^{-1}$	$1\ ng \cdot L^{-1} = 10^{-9}\ g \cdot L^{-1}$	-

3. RELATION ENTRE CONCENTRATION MOLAIRE ET CONCENTRATION MASSIQUE

La masse m_i d'un composé chimique est égale au nombre de moles n_i multiplié par la masse molaire M_i, d'où l'expression de la concentration massique ρ_i en fonction de la concentration molaire M_i :

$$m_i = n_i \times M_i \quad ; \quad \rho_i = \frac{n_i \times M_i}{V} \quad ; \quad \rho_i = C_i \times M_i$$

4. EXEMPLES

- **Concentration d'une solution d'ATP**

L'adénosine triphosphate (Fiche 33) est habituellement commercialisée sous la forme d'un sel de sodium : $ATPNa_2$, masse molaire = 551 $g \cdot mol^{-1}$. On pèse 20 mg de ce produit (soit 0,02 g) que l'on dissout dans 10 mL d'eau. Calculer la concentration massique et la concentration molaire de cette solution.

Concentration massique :

$$\rho_{ATP} = \frac{m_{ATP}}{V} = \frac{0,02}{0,01} = 2\ g \cdot L^{-1}$$

Concentration molaire :

$$C_{ATP} = \frac{\rho_{ATP}}{M_{ATP}} = \frac{2}{551} = 0,0036\ M = 3,6\ 10^{-3}\ M = 3,6\ mM$$

- **Concentration d'un solution d'albumine du sérum bovin (BSA)**

Il est courant d'utiliser des solutions d'albumine de sérum bovin comme étalons au cours de dosages de protéines. La BSA possède une masse molaire de 66 430 $g \cdot mol^{-1}$. On dissout 20 mg de BSA dans 10 mL d'eau.

Concentration massique :

$$\rho_{BSA} = \frac{m_{BSA}}{V} = \frac{0,02}{0,01} = 2\ g \cdot L^{-1}$$

Concentration molaire :

$$C_{BSA} = \frac{\rho_{BSA}}{M_{BSA}} = \frac{2}{66\,430} = 0,0000301\ M = 3,01\ 10^{-5}\ M = 30,1\ \mu M$$

6 Liaisons covalentes

Mots clés

Liaison covalente, règle de l'octet, structures de Lewis, énergie de liaison

1. NATURE DE LA LIAISON COVALENTE

Les électrons de la couche externe d'un atome sont appelés électrons de valence ; une liaison covalente entre deux atomes résulte de la mise en commun de deux électrons de valence. Les éléments constitutifs des molécules biologiques courantes peuvent contracter de 1 à 6 liaisons covalentes :

Atome	Période (n)	Électrons internes	Électrons de valence	Nombre de liaisons covalentes contractées	Nombre final d'électrons (gaz rare)
H	1		$1s^1$	1	2 (He)
C	2	$1s^2$	$2s^2\,2p^2$	4	8 (Ne)
N	2	$1s^2$	$2s^2\,2p^3$	3	8 (Ne)
O	2	$1s^2$	$2s^2\,2p^4$	2	8 (Ne)
P	3	$1s^2 2s^2\,2p^6$	$3s^2\,3p^3$	5	10
S	3	$1s^2 2s^2\,2p^6$	$3s^2\,3p^4$	2, 4 ou 6	8 (Ar), 10 ou 12

2. RÈGLE DE L'OCTET

La formation de liaisons covalentes aboutit à une occupation de la couche externe comparable à celle du gaz rare le plus proche dans la même période. Le nombre correspondant d'électrons est égal à 2 pour l'hydrogène qui adopte donc la configuration électronique de l'hélium. Tous les autres gaz rares présentent 8 électrons sur leur couche externe (configuration $ns^2\,np^6$) ; les éléments ont tendance à peupler leur couche externe avec 8 électrons (**règle de l'octet**), ce qui se vérifie avec le carbone, l'azote et l'oxygène.

Cette règle est souvent transgressée par exemple par le phosphore et le soufre qui peuvent entrer dans la composition de **composés hypervalents**. Dans l'acide phosphorique (H_3PO_4) et dans tous les composés phosphorylés, le phosphore contracte 5 liaisons covalentes et s'entoure donc de 10 électrons. Dans certains composés soufrés comme le sulfure d'hydrogène (H_2S), la **cystéine**, la **méthionine**, ou les sulfures organiques, le soufre est effectivement entouré de 8 électrons (configuration de l'argon), mais dans les composés oxygénés comme l'acide sulfurique (H_2SO_4) ou les esters de sulfate, le soufre contracte 6 liaisons covalentes (12 électrons).

3. FORMULES DÉVELOPPÉES

Dans les formules développées, un trait unissant les symboles de deux atomes symbolise une liaison covalente simple, appelée liaison σ (lettre grecque *sigma*) ; ce trait rappelle

que la densité électronique (orbitale moléculaire, voir Fiche 7) est la plus élevée dans une région située entre les deux noyaux atomiques :

Dihydrogène Méthane Éthane

Les schémas sont éventuellement complétés par les doublets électroniques non partagés symbolisés par un trait proche du symbole de l'atome considéré, ce qui permet au passage de souligner la règle de l'octet :

Eau Méthanol Éthanol

Les liaisons covalentes doubles sont représentées par deux traits. L'un des traits symbolise une liaison σ, le second, une liaison π (lettre grecque *pi*) pour laquelle l'orbitale moléculaire est décalée par rapport à l'axe défini par les deux atomes (Fiche 7). Dans les formules développées, on évite généralement de faire cette distinction :

Éthylène Urée Acide acétique

4. ÉNERGIE DES LIAISONS COVALENTES, DISTANCES DE LIAISON

Les liaisons covalentes sont des liaisons fortes. Par exemple, la dissociation d'une molécule de dihydrogène en deux atomes d'hydrogène nécessite une dépense de 436 kJoule par mole de dihydrogène. Dans le tableau suivant, on notera que l'augmentation du nombre de liaisons entre deux éléments s'accompagne de l'augmentation de l'énergie de dissociation et de la réduction de la distance entre les deux atomes.

Liaison	Distance (nm)	Énergie ($kJ \cdot mol^{-1}$)	Liaison	Distance (nm)	Énergie ($kJ \cdot mol^{-1}$)
C – C	0,154	414	C = O	0,122	750
C = C	0,134	611	C – N	0,140	290
C ≡ C	0,121	837	C = N	0,127	615
C – O	0,143	351	C ≡ N	0,115	891

7 Orbitales moléculaires

Mots clés

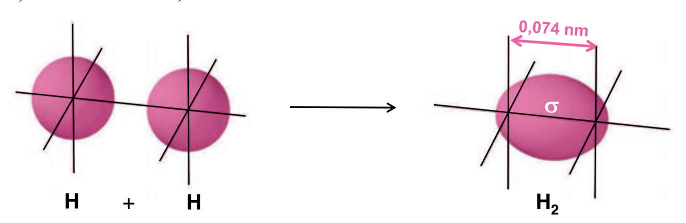
Hybridation des orbitales, liaisons σ, liaisons π, mésomérie, délocalisation, conjugaison

1. OBJECTIFS

L'établissement des liaisons covalentes du carbone (et de même O, N, S et P) présuppose l'**hybridation des orbitales** des électrons de valence. Les différents modes d'hybridation sous-tendent la géométrie des molécules organiques.

2. LA MOLÉCULE DE DIHYDROGÈNE

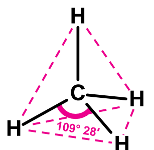
L'unique électron de l'atome d'hydrogène ($1s^1$) est contenu à 95 % dans une orbitale sphérique dont le rayon de 0,053 nm est assimilé au rayon de l'atome d'hydrogène. La liaison entre deux atomes d'hydrogène se décrit par le recouvrement des deux orbitales atomiques. L'orbitale moléculaire qui en résulte présente une symétrie axiale, et englobe les deux noyaux, distants de 0,074 nm :



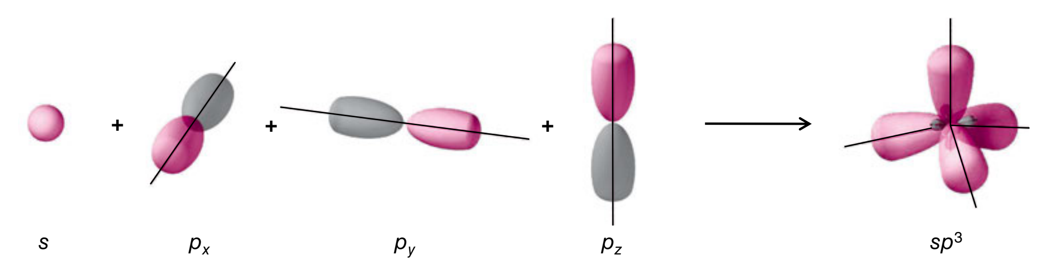
Les orbitales moléculaires de symétrie axiale sont appelées **orbitales** σ (lettre grecque sigma) et les liaisons correspondantes, **liaisons** σ.

3. LA MOLÉCULE DE MÉTHANE

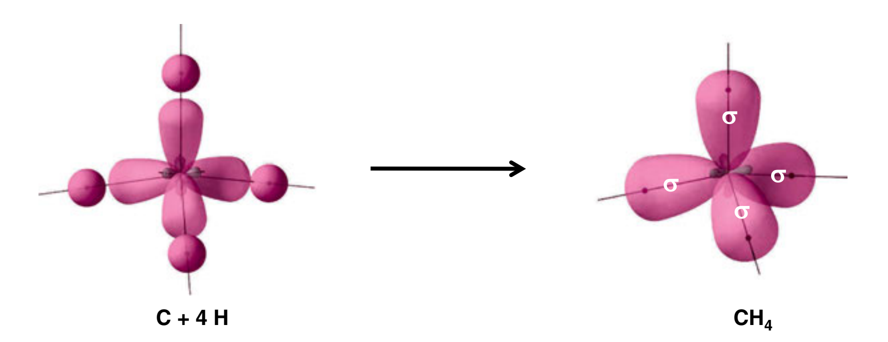
Le **méthane**, CH_4, peut se représenter sous la forme d'un tétraèdre régulier dont les quatre sommets sont occupés par les noyaux d'hydrogène et le centre par le noyau du carbone ; les liaisons C–H font entre elles un angle proche de 109,5° (plus précisément 109° 28').



Cette géométrie est incompatible avec les quatre orbitales du carbone normalement disponibles : $2s$, $2p_x$, $2p_y$ et $2p_z$. On imagine que ces quatre orbitales atomiques se combinent pour donner quatre orbitales hybrides sp^3 dont les axes de symétrie respectifs font, deux à deux, des angles de 109,5°.

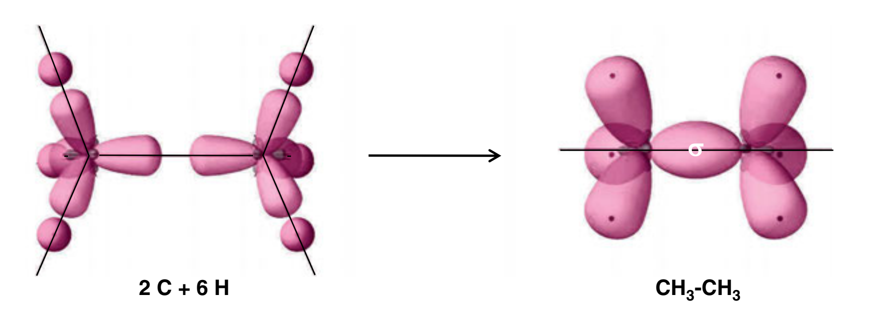


Le recouvrement de chaque orbitale sp^3 avec l'orbitale 1*s* d'un hydrogène conduit aux quatre orbitales σ du méthane où les noyaux d'hydrogène occupent les sommets d'un tétraèdre régulier (distance C–H = 0,109 nm).



4. LA MOLÉCULE D'ÉTHANE

La molécule d'éthane, CH_3–CH_3, se déduit aisément de la molécule de méthane. Il suffit d'imaginer deux carbones sp^3 associés chacun à trois atomes d'hydrogène pour effectuer le recouvrement frontal des deux orbitales sp^3 laissées libres et former une orbitale σ (distance C–C = 0,153 nm) :



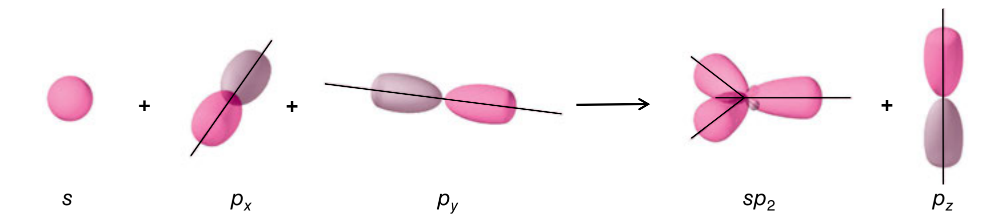
Propriété remarquable des liaisons σ, illustrée par la molécule d'éthane : les groupes CH_3 (groupes méthyle) peuvent tourner librement autour de l'axe carbone-carbone. La liberté de rotation autour des liaisons σ est à l'origine des propriétés conformationnelles des molécules organiques (**rotamères**, **conformères**) et plus particulièrement des polymères dont elle conditionne la flexibilité : chaînes de polyosides (Fiches 64, 65), d'acides nucléiques (Fiches 77, 78), de protéines (Fiches 39 à 43).

5. LA MOLÉCULE D'ÉTHYLÈNE

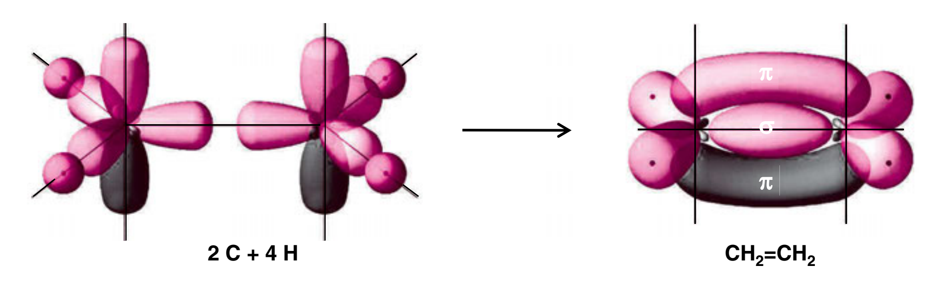
Les noyaux des six atomes de la molécule d'éthylène, $CH_2 = CH_2$, se situent dans un même plan et les liaisons forment des angles proches de 120°.

H H
121
118 C═C
H H

Cette géométrie est incompatible avec les orbitales des électrons de valence du carbone. Dans le cas présent, on combine l'orbitale 2*s* avec deux orbitales 2*p*, pour obtenir trois orbitales hybrides sp^2, coplanaires, dont les axes de symétrie forment des angles de 120°, laissant la dernière orbitale 2*p* non hybridée, perpendiculaire au plan des trois autres :



Dans la molécule d'éthylène chaque atome de carbone forme deux liaisons σ par recouvrement de deux orbitales sp^2, chacune avec l'orbitale 1*s* d'un atome d'hydrogène. Il se forme une cinquième liaison σ entre les deux atomes de carbone par recouvrement frontal des deux orbitales sp^2 coaxiales restantes. Le recouvrement latéral des orbitales *p* non hybridées conduit à la formation d'une **orbitale** π (lettre grecque *pi*) constituée de deux lobes allongés, disposés symétriquement de part et d'autre de la liaison σ, dans un plan perpendiculaire au plan des noyaux de la molécule.



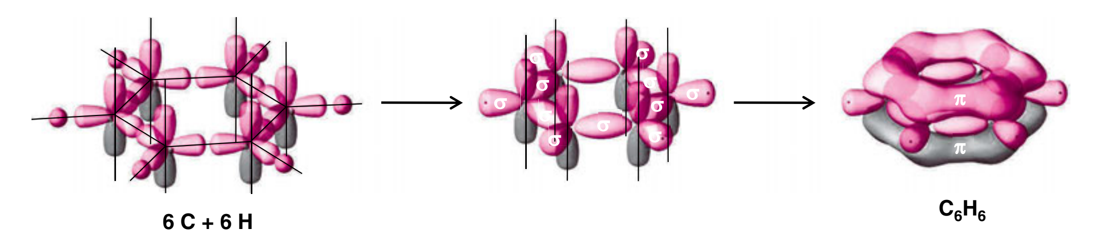
La liaison π interdit la rotation des groupes CH_2 (groupes méthylène) autour de l'axe C–C, contrairement à la situation rencontrée dans la molécule d'éthane. Le blocage rotationnel des doubles liaisons C = C, mais aussi C = N, revêt une importance primordiale en relation avec l'isomérie géométrique (Fiche 10), la structure des chaînes d'acides gras insaturés (Fiches 66 à 68), et la conformation des protéines (Fiches 39 à 42).

6. LA MOLÉCULE DE BENZÈNE

Les douze atomes du benzène, C_6H_6, sont coplanaires. Les noyaux de carbone occupent les sommets d'un hexagone régulier dont le côté, la distance C–C, est égal à 0,14 nm, intermédiaire entre une liaison simple (0,154 nm) et une liaison double (0,134 nm). Les 6 liaisons C–H, de longueurs égales, se positionnent dans les prolongements des trois diamètres de l'hexagone. On représente souvent le benzène muni de trois doubles liaisons C = C. Les deux formules A et B (deux formes **mésomères** du benzène) respectent la règle de l'octet, mais l'une comme l'autre sont inexactes, car les six atomes de carbone sont indiscernables : leurs propriétés physiques et chimiques sont rigoureusement identiques.

A B C

Ces difficultés disparaissent si l'on représente les orbitales moléculaires du benzène. On a recours à six orbitales $1s^1$ (hydrogène) et six carbones sp^2 dont l'orbitale p_z reste non hybridée (cf. éthylène) ; ces douze structures sont disposées en conformité avec la géométrie de la molécule C_6H_6.



Le recouvrement des orbitales situées dans le plan des noyaux C et H conduit aux douze liaisons σ ; les six orbitales *p* restantes se conjuguent pour former trois orbitales π délocalisées, chacune représentée de part et d'autre du plan de la molécule par des lobes symétriques. Le benzène prend finalement l'apparence d'un donut tranché par son milieu et dont les deux moitiés (nuages électroniques formés par les liaisons π délocalisées) prennent en sandwich les douze liaisons σ. On symbolise fréquemment le benzène par la formule C qui souligne la distribution périphérique des électrons π au moyen d'un cercle inscrit dans l'hexagone formé par les noyaux de carbone.
Un grand nombre de molécules biologiques possèdent des systèmes d'orbitales π délocalisées : les acides aminés aromatiques (Fiche 34), les **vitamines A**, **B1**, **B2**, **B3**, **B6**, **B12**, **D**, **E**, **K** et les coenzymes qui éventuellement en dérivent (Fiches 29, 30, 50, et 51), les **bases puriques** et **pyrimidiques** (Fiche 75). Ces systèmes π conjugués peuvent être très étendus, comme dans les **caroténoïdes** ou dans les **tétrapyrroles** : noyaux hème des cytochromes (Fiche 31), noyaux **chlorine** (**chlorophylles**) ou **corrine** (vitamine et coenzyme B12, Fiche 50).
Une **délocalisation électronique** se manifeste dès que trois orbitales *p* parallèles sont respectivement présentes sur trois atomes adjacents. Ces conditions minimales sont réunies dans la **liaison peptidique** (Fiche 39) dont les caractéristiques géométriques et physico-chimiques conditionnent en grande partie les structures secondaire et tertiaire des protéines (Fiches 40 à 42).

8 Fonctions chimiques des molécules biologiques

Mots clés

Alcool, amine, acide, éther, ester, anhydride d'acide phosphorique, anhydride mixte, amide, hémi-acétal, acétal, hémi-cétal, cétal, thiol, thioester, phosphate, diphosphate, triphosphate, guanidinium, phosphamide

On retrouve dans les molécules biologiques les fonctions de la chimie organique classique, auxquelles il faut ajouter les composés soufrés ou phosphorylés.

Les groupes ionisables sont présentés tels qu'ils apparaissent à pH 7 dans un milieu aqueux : amines protonées, groupes acides déprotonés : carboxyle, phosphate, diphosphate et triphosphate.

Les esters de di et triphosphates présentent deux types de fonctions : fonction ester (liaisons C-O-P) et fonction anhydride d'acide phosphorique (liaisons P-O-P) ; voir à ce sujet les fiches 29, 30, 32, 33 et 75.

Fonction	Formules	Exemples	Fiches
Alcool primaire	$R-CH_2-OH$	Glucides, polyalcools, sérine	34, 60, 67, 68, 69
Alcool secondaire	$R-CH(OH)-R'$	Glucides, polyalcools, thréonine, acide isocitrique	34, 63, 82
Alcool tertiaire	$R-C(OH)(R')-R''$	Acide citrique	79, 82
Phénol	$R-C_6H_4-OH$	Tyrosine	34, 37
Thiol	$R-SH$	Cystéine, glutathion réduit, coenzyme A	34, 81, 84
Disulfure	$R-S-S-R'$	Cystine, glutathion oxydé	34
Amine primaire	$R-NH_3^+$	Aminoacides (sauf proline) Amines biogènes	34, 37
Amine secondaire	$R-NH_2^+-R'$	Proline (amine secondaire cyclique)	34, 40
Aldéhyde	$R-C(=O)-H$	Glucides (Aldoses)	63
Hémi-acétal	$R-O-CH(OH)-R'$	Glucides (Aldoses)	63, 64, 71
Acétal	$R-O-CH(O-R'')-R'$	Glucides (diosides, polyosides, hétérosides)	63-65
Cétone	$R-C(=O)-R'$	Glucides (Cétoses)	63
Hémi-cétal	$R-O-C(OH)(R'')-R'$	Glucides (Cétoses)	63, 64

Fonction	Formules	Exemples	Fiches
Cétal	$R-O-C(-O-R''')(-R'')-R'$	Glucides (diosides, polyosides)	64, 65
Acide carboxylique (carboxylate)	$R-C(=O)-O^-$	Acides gras, aminoacides	34, 35, 36, 66, 82, 84
Amide primaire	$R-C(=O)-NH_2$	Glutamine, asparagine	34
Amide primaire substitué	$R-C(=O)-N(H)-R'$	Liaison peptidique	39
Ester (d'acide carboxylique)	$R-O-C(=O)-R'$	Triglycérides, phospholipides, cires	67, 68, 74
Thioester	$R-S-C(=O)-R'$	Acétyl-CoA, molécules d'acyl-CoA	32, 81, 84
Thio éther	$R-S-R'$	Méthionine	34
Ester de phosphate	$R-O-P(=O)(O^-)-O^-$	Nucléotides, sucres phosphorylés	75, 80
Ester de diphosphate	$R-O-P(=O)(O^-)-O-P(=O)(O^-)-O^-$	ADP, autres nucléosides diphosphate	32, 33, 75, 83
Ester de triphosphate	$R-O-P(=O)(O^-)-O-P(=O)(O^-)-O-P(=O)(O^-)-O^-$	ATP, autres nucléosides triphosphate	32, 33, 82, 83
Diester de phosphate ou phosphodiester	$R-O-P(=O)(O^-)-O-R'$	Acides nucléiques, nucléotides cycliques	77, 78
Diester de diphosphate	$R-O-P(=O)(O^-)-O-P(=O)(O^-)-O-R'$	NAD^+, $NADP^+$, FAD, UDPG	29, 30
Anhydride mixte (carboxylphosphate)	$R-C(=O)-O-P(=O)(O^-)-O^-$	1,3 bisphosphoglycérate	32, 80
Guanidinium	$R-N-C(=N^+H_2)-NH_2$	Créatine, arginine	34, 35, 36, 37
Guanidine phosphate	$R-N=C(NH_2)-N(H)-P(=O)(O^-)-O^-$	Créatine phosphate, arginine phosphate	32, 37

9 Forces intermoléculaires ou liaisons faibles

Mots clés

Liaison hydrogène, forces de van der Waals, liaison ionique, ponts salins, interaction hydrophobe

1. LIAISON HYDROGÈNE

Cette interaction se rencontre lorsqu'un atome d'hydrogène, lié par covalence à un atome électronégatif – D pour « donneur », se trouve à proximité d'un second atome électronégatif – A pour « accepteur ». En raison de son électronégativité, l'atome donneur (le plus souvent O ou N) attire les électrons de la liaison covalente et porte une charge négative partielle (δ^-), compensée par une charge positive partielle au niveau de l'hydrogène (δ^+) : on dit que cette liaison est polarisée. À son tour, cette charge positive attire un atome porteur de charge négative partielle (le plus souvent O ou N). Principalement de nature électrostatique, la liaison hydrogène (liaison H) est d'autant plus forte que la constante diélectrique est faible (voir plus loin : liaisons ioniques). En outre, la liaison H présente un caractère directionnel car on observe une stabilité optimale lorsque les trois atomes D, H, A sont parfaitement alignés.

2. FORCES DE VAN DER WAALS

Il s'agit d'un ensemble de trois forces distinctes (**Keesom**, **Debye**, **London**) qui se manifestent à faible distance entre atomes ou groupements d'atomes. L'interaction de London, également connue sous le nom de **force de dispersion,** est la plus importante des trois car elle rend compte d'attractions mutuelles et non-spécifiques observées entre atomes, groupes d'atomes ou molécules de quelconque nature. Les forces de van der Waals comptent parmi les plus modestes des forces faibles, mais comme elles interviennent toujours en très grand nombre, elles jouent des rôles majeurs dans l'édification et la stabilisation des structures biologiques.

3. LIAISONS IONIQUES

La loi de Coulomb donne l'expression de l'énergie potentielle de deux charges ponctuelles séparées d'une distance r : $E = \frac{z_1 z_2 q_1 q_2}{4\pi\varepsilon_0 D r}$, où z_1 et z_2 représentent les signes des deux charges, q_1 et q_2 leurs valeurs absolues, ε_0, la **permittivité absolue du vide**, D, la **constante diélectrique** du milieu et r la distance qui sépare les charges en question. Si ces dernières sont de nature différente ($z_1 \neq z_2$), elles s'attirent ($E < 0$) alors que dans le cas inverse ($z_1 > z_2$), elles se repoussent ($E > 0$).

Facile à comprendre, cette interaction est néanmoins difficile à chiffrer. La constante diélectrique des milieux biologiques est extrêmement variable : 78 dans l'eau et ~1 dans les milieux apolaires comme l'intérieur des membranes biologiques (Fiche 72) ; de plus, D est loin d'être constante à l'intérieur d'une même structure. Ensuite, la loi de Coulomb est établie pour des charges ponctuelles alors que les charges des molécules organiques sont souvent réparties sur plusieurs atomes (cf. exemple du tableau : charge – répartie sur

trois atomes, charge + sur quatre atomes). Ce dernier problème est encore plus complexe dans le cas des protéines car les associations de groupes ionisés d'aminoacides (ponts salins), font également intervenir des liaisons hydrogène.

4. INTERACTION HYDROPHOBE

Agitez bien fort une vinaigrette. Au repos, l'huile se sépare progressivement du vinaigre : ce phénomène de **séparation de phase** est la conséquence de l'**interaction hydrophobe** qui se manifeste à l'échelle moléculaire. L'agitation disperse les groupes apolaires (cercles noirs) dans un milieu polaire dans lequel ils ne sont pas solubles (exemple : de l'eau, chevrons rouges) : les molécules d'eau s'organisent (liaisons H) autour des groupes apolaires. Cette situation évolue spontanément vers un état plus stable, où les molécules apolaires se rassemblent (liaisons de van der Waals) et, petit à petit, forment une phase distincte.

Dans le même temps, des molécules d'eau initialement figées autour des groupes apolaires se trouvent libérées dans le milieu ; du point de vue thermodynamique, leur entropie augmente ($\Delta_r S'^\circ > 0$). On montre par ailleurs que $\Delta_r H'^\circ \sim 0$. La variation d'enthalpie libre $\Delta_r G'^\circ = -T\Delta_r S'^\circ$, est négative, et la séparation des deux phases est la conséquence de l'augmentation d'entropie des molécules d'eau. Le même phénomène se déroule au cours du repliement des protéines.

Interaction	Exemples	$\Delta_r G'^\circ$ (kJ·mol^{-1}) *	Intervention	Fiches
Liaison H	δ^- δ^+ δ^- D — H------ A ; 0,17 à 0,20 nm	–10 à –40	Acides nucléiques (appariement des bases) Protéines (structures secondaires)	40, 43, 77, 78
Force de van der Waals (London)	H H H H H H ; 0,35 à 0,40 nm	– 4**	Membranes biologiques Repliement des protéines ADN (empilement des paires de bases)	42, 43, 72, 74, 76
Liaison ionique	O O ⊖ ; H H H N ⊕	– 40	Protéines (ponts salins)	42, 43
Interaction hydrophobe	+ + ; +	– 4 à –13***	Protéines (stabilisation du repliement) Membranes biologiques	42, 43, 72, 74

* valeurs moyennes de l'énergie de formation ; sur $\Delta_r G'^\circ$ voir Fiche 24.
** pour une paire d'atomes d'hydrogène.
*** par groupe – CH_2 –.

10 Isomérie

Mots clés

Isomérie de position, de fonction, tautomérie, prototropie

1. GÉNÉRALITÉS

Deux composés sont isomères l'un de l'autre si, possédant la même formule brute, ils se distinguent par leurs formules développées : $C_6H_{12}O_6$ est la formule brute de plus de 160 isomères du D-glucose. On évoque ci-dessous différentes classes d'isomérie : de chaîne, de position, de fonction, tautomérie, isomérie géométrique. L'isomérie optique est abordée dans les fiches 12 et 13.

2. ISOMÉRIE DE CHAÎNE

Les isomères de chaîne sont des molécules qui diffèrent par la disposition des atomes dans une chaîne carbonée. Par exemple, la L-leucine et la L-isoleucine : position d'un groupe méthyl en γ (leucine) ou β (isoleucine) :

L-leucine L-isoleucine

Ces deux acides aminés possèdent des propriétés très voisines et jouent des rôles comparables dans la structuration des protéines.

3. ISOMÉRIE DE POSITION

Les isomères de position sont des composés qui diffèrent par l'emplacement d'un groupement fonctionnel. Ce type d'isomérie est fréquemment rencontré en biochimie ; par exemple le glucose-6-phosphate et le glucose-1-phosphate sont des isomères de position :

Glucose-6-phosphate Glucose-1-phosphate

4. ISOMÉRIE DE FONCTION

Deux isomères de fonction se caractérisent par une différence de fonction chimique. Le glycéraldéhyde, portant une fonction aldéhyde en 1 est un isomère de fonction du dihydroxyacétone, portant une fonction cétone en 2.

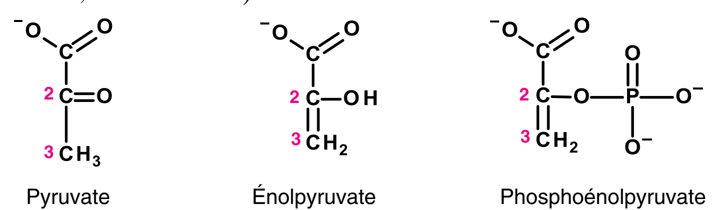
D-Glycéraldéhyde

Dihydroxyacétone

De même, le D-glucose et le D-fructose sont des isomères de fonction.

5. TAUTOMÉRIE

On parle de tautomérie lorsqu'un atome ou un groupe d'atomes change de position dans une molécule. Dans 99 % des cas il s'agit de la migration d'un proton, et l'on parlera de **prototropie**. Le pyruvate et l'énolpyruvate sont deux tautomères du fait de la migration d'un proton du carbone 3 vers l'oxygène du carbonyle en 2 pour donner la forme énol (*en* = double liaison, et *ol* = alcool).

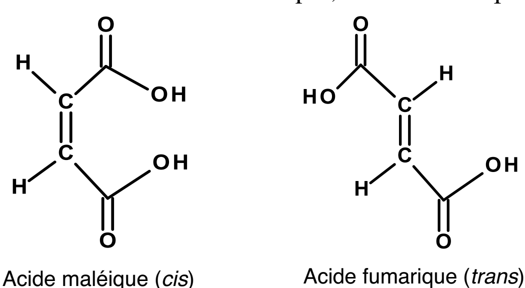


Pyruvate — Énolpyruvate — Phosphoénolpyruvate

L'équilibre est favorable au pyruvate ($K'_{éq}$ = [Pyruvate]/[Énolpyruvate] = 4 10^6) mais l'estérification stabilise la forme énol : exemple, le phosphoénolpyruvate, intermédiaire « riche en énergie » de la glycolyse (Fiches 32 et 33).

6. ISOMÉRIE GÉOMÉTRIQUE

Il s'agit d'une forme de stéréoisomérie où deux carbones reliés par une double liaison portent des substituants identiques qui peuvent se disposer du même côté (cis) ou de part et d'autre (trans) de la double liaison. Par exemple, l'acide maléique et l'acide fumarique :



Acide maléique (*cis*) — Acide fumarique (*trans*)

Les acides gras insaturés naturels présentent essentiellement des doubles liaisons *cis* (Fiches 66 et 67).

11 Représentation de Cram

Mots clés

Cram, représentations tridimensionnelles, perspective

1. OBJECTIF

Apprendre à dessiner les molécules en perspective selon la représentation spatiale proposée par le chimiste américain Donald Cram.

2. CONVENTIONS

La représentation de Cram repose sur quelques règles simples :

- Une liaison entre deux atomes dans le plan de la feuille est représentée par un trait plein :

A——B

- Une liaison entre un atome situé dans le plan de la feuille et un atome placé en avant de la feuille est représentée par un triangle plein dont la pointe est dirigée vers l'atome situé dans le plan de la feuille et la base dirigée vers l'atome en avant de la feuille :

A◀B

- Une liaison entre un atome situé dans le plan de la feuille et un atome placé en arrière du plan de la feuille est représentée par un triangle hachuré dont la pointe est dirigée vers l'atome situé dans le plan de la feuille et la base dirigée vers l'atome en arrière du plan de la feuille :

A·····B

- On choisit de placer le plus grand nombre de liaisons dans le plan de la feuille. Un atome de carbone *sp*^{3}, donc porteur de quatre liaisons, se représente avec deux liaisons dans le plan de la feuille, une en avant et une en arrière. Exemple, la molécule de méthane :

H, H—C—H, H → H, H, H, H

- L'atome central dont la nature n'est pas spécifiée est implicitement compris comme étant du carbone.

- Cette représentation est souvent destinée à illustrer la configuration particulière d'une région ou d'un atome d'une molécule. Aussi, on limite au maximum les détails des autres parties dont les caractères structuraux sont tenus pour implicites. Exemples, la molécule de glycine lorsque l'on veut souligner la configuration du carbone α ; on a volontairement simplifié la représentation des fonctions amine et carboxyle :

H–C_α(H)(NH$_3^+$)–COO$^-$ ⟶ (représentation de Cram)

- Et de même, la molécule d'acide oléique, si l'on désire souligner la configuration de la double liaison entre les carbones 9 et 10 :

CH_3-$(CH_2)_7$-$\overset{10}{C}H$=$\overset{9}{C}H$-$(CH_2)_7$-COO^- ⟶ CH_3-$(CH_2)_7$–C10(H)=C9(H)–$(CH_2)_7$-COO^-

- Souvent, les molécules complexes ne pourront se représenter aussi simplement à l'aide du seul plan de la feuille, et chaque classe particulière de molécule devra faire l'objet de conventions spécifiques. Par exemple, la forme cyclique de la molécule de D-ribose :

(cycle : O, carbones 1 à 4 ; C5 : HO, H, H ; C1 : OH, H ; C2 : H, OH ; C3 : H, OH ; C4 : H)

Le schéma de cette molécule s'étage sur trois plans : les carbones 1, 4 et 5 résident dans le plan de la feuille, les carbones 2 et 3 dans un plan en avant de la feuille et l'oxygène du cycle dans un plan en arrière de la feuille. Seules les liaisons C1-C2 et C3-C4 sont représentées par des triangles pleins pour souligner la vision en perspective de l'ensemble, et la liaison C2-C3 est dessinée en gras. Toutefois, les deux liaisons partant de l'oxygène sont figurées par de simples traits, de même que les liaisons qui unissent les carbones 2 et 3 aux hydrogènes et aux groupes hydroxyles alors que ces quatre substituants regroupent les atomes les plus proches de l'observateur.

12 Projection de Fischer

Mots clés

Fischer, sucres, amino-acides, série D, série L, filiation, nomenclature

1. OBJECTIF

Représenter les molécules, principalement de sucres et d'aminoacides, en utilisant la convention d'écriture proposée par Emil Fischer.

2. CONVENTIONS

La projection de Fischer est utilisée pour reconnaître les structures ouvertes des sucres et les structures des aminoacides. On imagine dans un premier temps l'œil de l'observateur dirigé vers la molécule représentée en trois dimensions selon Cram (dans cet exemple, une molécule de glycéraldéhyde) :

H
1
C
O
H
C2
HO
3
C
OH
H
H

1CHO
2
H
OH
3CH_2OH

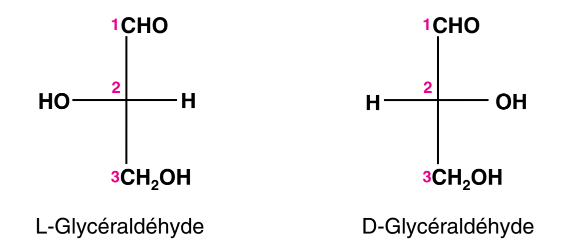
Il est nécessaire de respecter un certain nombre de conventions :

- On indexe la chaîne carbonée en donnant au carbone le plus oxydé le nombre le plus faible possible (dans la figure ci-dessus, le carbone 1, porteur de la fonction aldéhyde, est le plus oxydé des trois)
- On dispose la chaîne carbonée verticalement, le carbone 1 en haut, de manière à ce qu'elle définisse, du point de vue de l'observateur, une ligne convexe.
- On dessine alors la projection de la molécule sur un plan perpendiculaire à la direction de l'observation : la chaîne carbonée se réduit à une ligne verticale croisée par des lignes horizontales dont les extrémités portent les différents groupements.

Si la molécule possède un branchement, on indexe la chaîne carbonée la plus longue possible : par exemple, les carbones de l'isoleucine sont indexés de 1 à 5 (Fiche 34).

3. FILIATION DES SUCRES

Le glycéraldéhyde est le plus simple des sucres possédant une fonction aldéhyde (Fiche 63). Le carbone 2, porteur d'une fonction alcool secondaire est en fait substitué par quatre groupements différents : c'est un **carbone asymétrique** ou encore **carbone chiral** (Fiche 13). La fonction alcool du carbone 2 peut se trouver projetée à gauche ou à droite de la chaîne carbonée ; dans le premier cas, on parlera du L-glycéraldéhyde (L, pour le latin *laevus* : « du côté gauche »), dans le second, du D-glycéraldéhyde (D, pour le latin *dexter* : « qui est à droite ») :

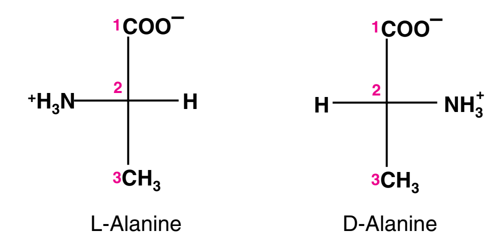


L-Glycéraldéhyde D-Glycéraldéhyde

Les autres sucres seront également représentés au moyen de la projection de Fischer. La configuration de leur carbone asymétrique le plus éloigné de la fonction carbonyle détermine leur appartenance à la série L ou à la série D, selon que l'hydroxyle porté par ce carbone est projeté, respectivement, à gauche ou à droite de la chaîne carbonée (Fiche 63). L'appartenance à la série L ou à la série D définit la filiation des sucres. L'ensemble de ces définitions fait partie des règles de nomenclature des glucides ; ces règles sont a priori sans aucun rapport avec les propriétés biologiques ou métaboliques de ces différentes molécules.

4. AMINOACIDES

Vingt aminoacides constituent les protéines naturelles (Fiche 34) et dix-neuf d'entre eux possèdent un carbone 2 (plus couramment appelé carbone α) dont les quatre substituants sont différents, à l'instar du glycéraldéhyde. On peut donc imaginer deux séries d'aminoacides, illustrées par exemple par l'alanine :



L-Alanine D-Alanine

Ces dix-neuf aminoacides présentent tous la même configuration au niveau du carbone 2 : la fonction amine est projetée à gauche de la chaîne carbonée ; par analogie avec le glycéraldéhyde, on dira que les aminoacides constituants les protéines appartiennent à la série L (sauf la glycine, cf. Fiche 34). Les acides aminés de la série D ne sont jamais rencontrés dans les protéines naturelles, mais on les retrouve dans la paroi des bactéries.

13 Molécules chirales

Mots clés

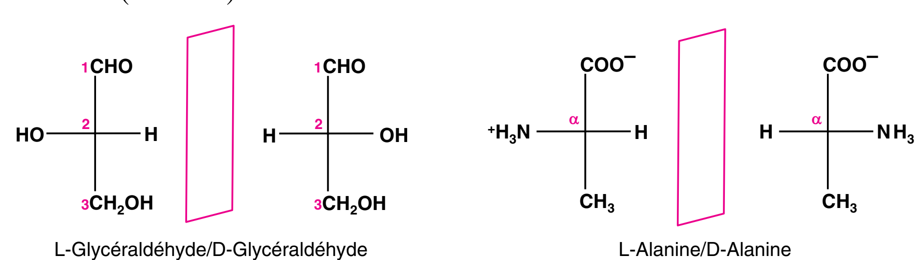
Chiralité, énantiomères, isomères optiques, diastéréoisomères, activité optique

1. EN BREF

Les aminoacides, les glucides, et leurs dérivés sont, à de rares exceptions près, des molécules chirales, ou asymétriques, c'est-à-dire dépourvues de plan ou de centre de symétrie.

2. CHIRALITÉ

L'adjectif « chiral », du grec *kheiros* = main, qualifie une structure dépourvue de plan ou de centre de symétrie et qui, par voie de conséquence, n'est pas superposable à son image dans un miroir. L'exemple le plus immédiat est donné par le couple main gauche/main droite. Un atome de carbone relié à quatre groupements différents reçoit le nom de **carbone chiral** ou **carbone asymétrique**, tel le carbone 2 du glycéraldéhyde ou le carbone α de l'alanine (Fiche 12).

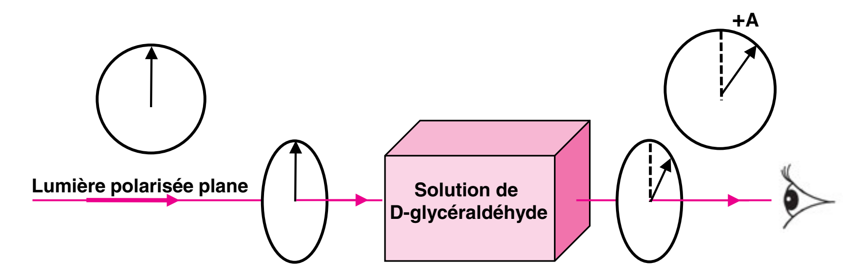


Le L-glycéraldéhyde est l'image du D-glycéraldéhyde dans un miroir, mais ces deux molécules ne sont pas superposables ; de même, la L-alanine et la D-alanine. Les couples de molécules possédant cette propriété sont appelés **énantiomères** (ou bien, indifféremment, **isomères optiques**, **antipodes optiques**, **inverses optiques**). Cette notion s'applique bien sûr aux molécules possédant plusieurs carbones asymétriques : L-glucose/D-glucose, L-fructose/D-fructose, etc. sont autant de couples d'énantiomères (Fiche 63).

3. PROPRIÉTÉS DES COUPLES D'ÉNANTIOMÈRES

Les deux molécules d'un couple d'énantiomères partageront les mêmes propriétés physiques : température de fusion, d'ébullition, solubilité dans l'eau, etc. à l'exception du pouvoir rotatoire ou activité optique.

Cette activité désigne l'action que des molécules optiquement actives comme le D-glycéraldéhyde exercent sur le plan de polarisation de la lumière. Lorsqu'une solution de molécule optiquement active est traversée par une lumière polarisée plane, on assiste à la rotation du plan de polarisation, d'un angle dont la valeur est proportionnelle à la concentration du soluté et à la longueur de la solution traversée. Le D-glycéraldéhyde fait tourner le plan de polarisation vers la **droite** de l'observateur qui reçoit la lumière (sens des aiguilles d'une montre) ; on dit pour cette raison que ce composé est **dextrogyre**. Par convention, l'angle de rotation est compté positivement (+A).



Une solution de L-glycéraldéhyde de même concentration fait tourner le plan de polarisation vers la **gauche** (sens inverse des aiguilles d'une montre) ; on dit alors que ce composé est **lévogyre**. L'angle de rotation, de même valeur absolue, est composé négativement (–A). Ce pouvoir rotatoire permet de différencier les deux isomères optiques. On peut préciser le sens de déviation de la lumière polarisée dans le nom de la molécule : L(–)-glycéraldéhyde, D(+)-glycéraldéhyde, et de même L(+)-alanine, D(–)-alanine. Le pouvoir rotatoire d'une molécule chirale est sans relation avec sa filiation (L ou D).

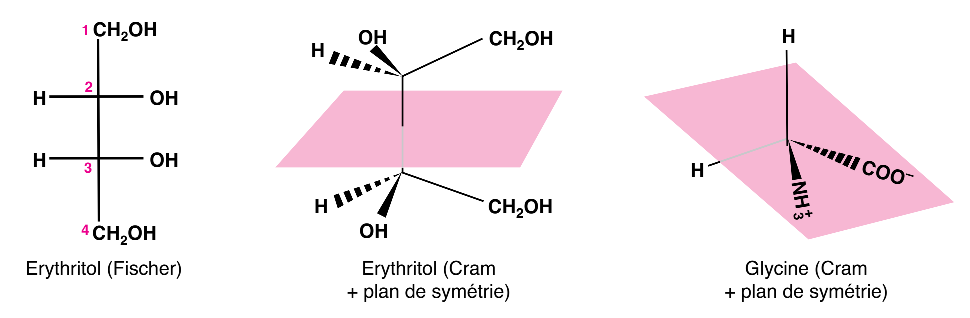
4. QUELQUES PRÉCISIONS UTILES

Deux molécules de même composition chimique et dont les structures ne sont pas superposables ne sont pas obligatoirement des énantiomères. Il faut pour cela qu'elles soient aussi l'image d'une de l'autre dans un miroir. Si cette condition n'est pas respectée, les deux molécules sont qualifiées de **diastéréoisomères** ; par ailleurs, leurs propriétés physiques et chimiques sont différentes. Par exemple, le D-glucose et le D-mannose sont des diastéréoisomères (Fiche 63).

Une solution contenant un couple d'énantiomères à concentrations égales est dépourvue de pouvoir rotatoire car l'activité optique de l'un des énantiomères se trouve exactement compensée par l'autre. On parlera de mélange **racémique**.

On observera le même phénomène avec une molécule comprenant des carbones asymétriques mais dont la structure admet un plan de symétrie. Exemple, l'érythritol : bien que cette molécule comprenne deux carbones asymétriques (carbones 2 et 3), leurs effets sur la lumière polarisée se compensent mutuellement, et les solutions d'érythritol n'ont aucune activité optique ; on parlera dans ce cas de composé méso, ou racémique par compensation interne.

La glycine est la seule exception parmi les 20 aminoacides qui composent les protéines : cette molécule possède un plan de symétrie car deux des quatre substituants du carbone α sont identiques. Le carbone α de la glycine n'est donc pas un centre chiral, et les solutions de glycine sont dépourvues d'activité optique.



14 Spectrophotométrie

Mots clés

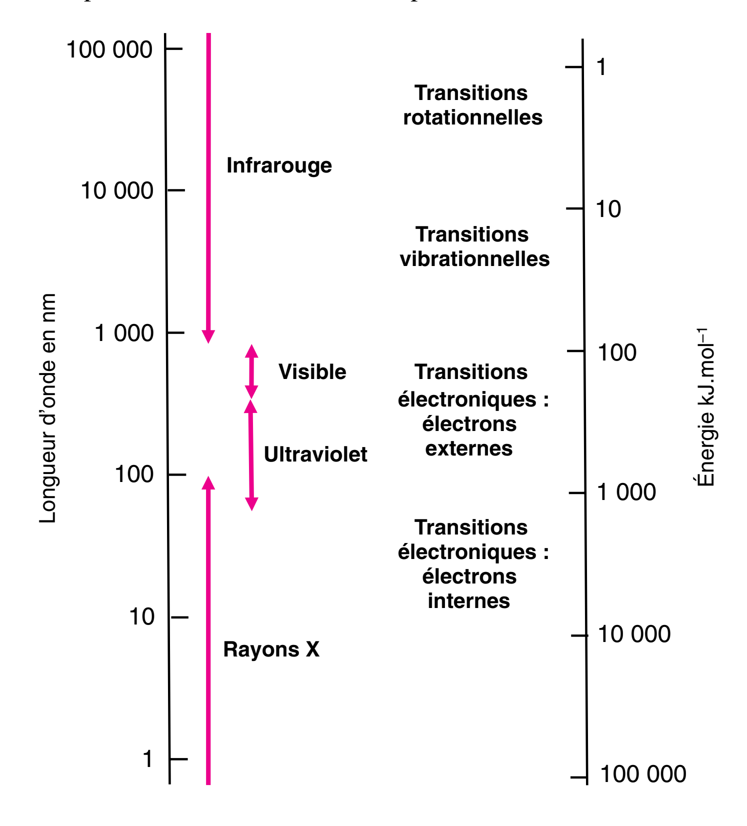
Loi de Beer-Lambert, absorbance, absorptivité molaire, spectres UV-visible, orbitales π délocalisées

1. UTILISATION DE LA SPECTROPHOTOMÉTRIE EN BIOCHIMIE

La **spectrophotométrie** est l'une des techniques analytiques les plus utilisées en biochimie. Elle permet d'identifier des molécules à l'aide de leur **spectre d'absorption** de la lumière dans le domaine du visible ou du proche ultraviolet. La concentration de composés connus peut être déterminée en mesurant l'absorption de leurs solutions à une ou plusieurs longueurs d'onde. De nombreuses réactions enzymatiques peuvent être suivies par spectrophotométrie en observant l'apparition d'un produit ou la disparition d'un substrat.

2. ABSORPTION DES ONDES ÉLECTROMAGNÉTIQUES

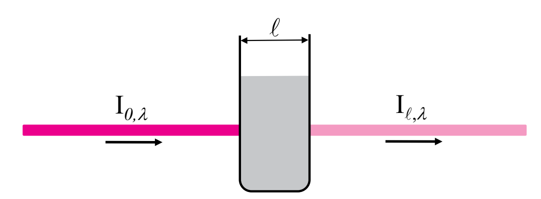
Les spectrophotomètres utilisés au laboratoire de biochimie mesurent l'absorption de la lumière appartenant aux domaines du visible et de l'ultraviolet (UV) ; les longueurs d'onde (λ) s'étendent de 800 à 400 nm pour le visible, et de 400 nm à 220 nm pour le proche ultra-violet. Ces radiations sont préférentiellement absorbées par les électrons des liaisons π délocalisées.



Les rayons de l'ultra-violet lointain (λ < 200 nm) et les rayons X sont absorbés par les électrons des liaisons σ ou les électrons des couches internes. L'absorption de rayons infrarouges se traduit par une modification des modes de vibration ou de rotation des molécules.

3. LOI DE LAMBERT-BEER

La loi de Lambert-Beer décrit l'absorption d'une lumière de longueur d'onde λ (lumière monochromatique) en fonction de la concentration c de la substance absorbante et de l'épaisseur ℓ du milieu traversé par la lumière, que l'on nomme chemin optique. Le faisceau lumineux incident, d'intensité $I_{0,\lambda}$ traverse la solution contenue dans une cuvette transparente ; à la sortie de la cuvette, l'intensité $I_{\ell,\lambda}$ du faisceau lumineux est mesurée par un détecteur :



Connaissant l'intensité incidente $I_{0,\lambda}$, et l'intensité transmise $I_{\ell,\lambda}$, on définit la **transmittance** T_λ et l'**absorbance** A_λ :

$$T_\lambda = \frac{I_{\ell,\lambda}}{I_{0,\lambda}} \qquad A_\lambda = -\log_{10} T_\lambda$$

La loi de Lambert-Beer donne la variation de la transmittance en fonction de la concentration de la substance absorbante et de la longueur du chemin optique :

$$\log_{10} T_\lambda = -k_\lambda c \ell$$

On en déduit l'expression de l'absorbance :

$$A_\lambda = k_\lambda c \ell$$

L'absorbance est proportionnelle à la concentration de la substance étudiée et à la longueur du chemin optique. Le coefficient k_λ est caractéristique de la substance étudiée et de la longueur d'onde. Comme l'absorbance est une grandeur sans dimension, la dimension du coefficient k_λ est exactement l'inverse du produit des dimensions de c et ℓ. On se trouve généralement en présence de l'un des deux cas de figure suivants :

- La concentration de la substance est exprimée en mol·L^{-1} (c_M) et le chemin optique en cm. Le coefficient k_λ est donc exprimé en L·mol^{-1}·cm^{-1}. On le nomme **absorptivité molaire** ou **coefficient d'absorption molaire**, symbolisé par $\varepsilon_{M,\lambda}$:

$$A_\lambda = \varepsilon_{M,\lambda} c_M \ell$$

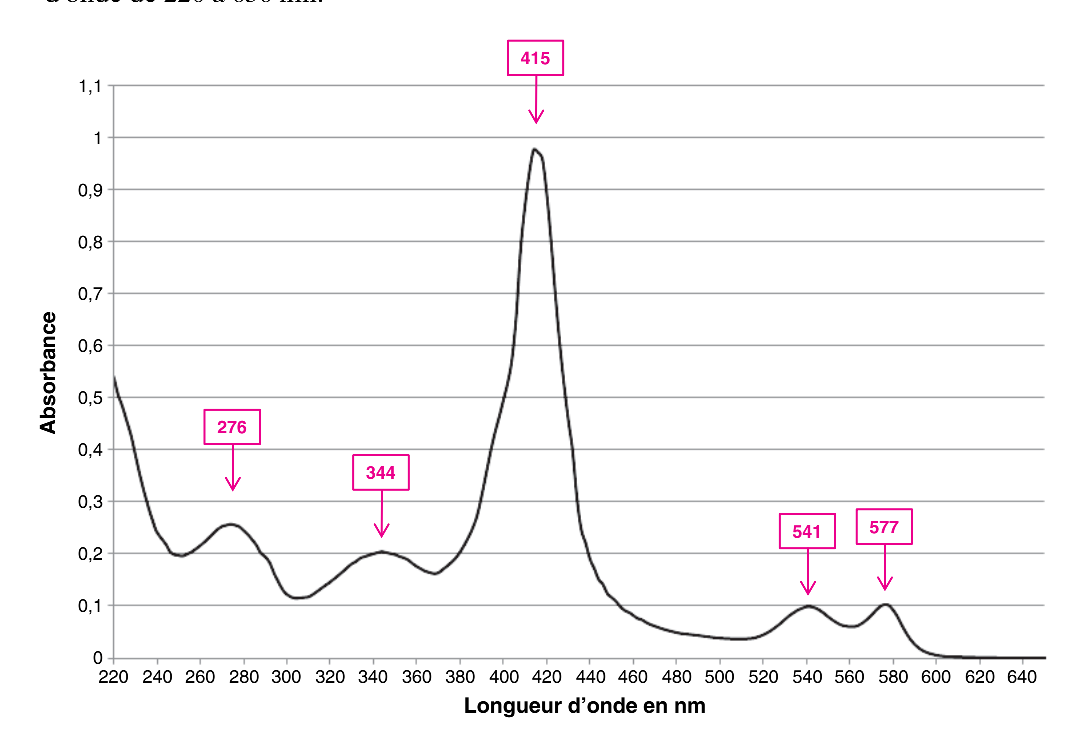
- La concentration est exprimée en g·L^{-1} (c_S) et le chemin optique en cm ; le coefficient k est alors exprimé en L·g^{-1}·cm^{-1}. On le nomme **coefficient d'absorption spécifique**, symbolisé par $\varepsilon_{s,\lambda}$:

$$A_\lambda = \varepsilon_{S,\lambda} c_S \ell$$

4. SPECTRES D'ABSORPTION

Les spectres d'absorption regroupent les valeurs d'absorbance enregistrées dans un intervalle donné de longueurs d'onde. La figure ci-dessous reproduit le spectre d'absorption

de l'**hémoglobine** oxygénée humaine (HbO_2), obtenu par balayage continu des longueurs d'onde de 220 à 650 nm.



L'hémoglobine oxygénée contient quatre molécules de dioxygène fixées individuellement à chacun des quatre noyaux hème (Fiche 31). Le spectre de l'hémoglobine est dominé par l'absorption de la lumière par ces quatre noyaux. On trouve en premier lieu une bande d'absorption à la limite de l'UV et du visible, dite bande Soret (maximum à 415 nm) ; outre un second maximum dans l'UV à 344 nm, on observe deux autres bandes dans le domaine du visible (maxima à 541 et 577 nm) : ces deux bandes d'absorption sont responsables de la couleur rouge vif de l'hémoglobine oxygénée (et donc du sang artériel). Dans l'ultra-violet, l'absorption autour de 276 nm est redevable des chaînes latérales d'aminoacides aromatiques, principalement les 6 tryptophanes et les 12 tyrosines (Fiche 34). En deçà de 240 nm, on enregistre l'absorption par d'autres chaînes latérales d'aminoacides mais surtout par les liaisons peptidiques (au nombre de 570). Toutes ces bandes d'absorption correspondent à des systèmes de liaisons π délocalisées (Fiche 7).

5. DEUX LIGNES DE CALCUL

Ce spectre de l'hémoglobine oxygénée a été obtenu à partir d'une solution d'hémoglobine diluée à 0,12 $g \cdot L^{-1}$, introduite dans une cuvette de 1 cm d'épaisseur interne. Calculons le coefficient d'absorption spécifique de l'hémoglobine à 415 nm, longueur d'onde où l'absorbance est égale à 0,98 :

$$\varepsilon_{S,415} = \frac{A_{415}}{c_S \ell} = \frac{0,98}{0,12 \times 1} = 8,17 \text{ L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$$

Quant au coefficient d'absorption molaire, compte tenu de la masse molaire de l'hémoglobine, 64 500 g·mol^{-1} :

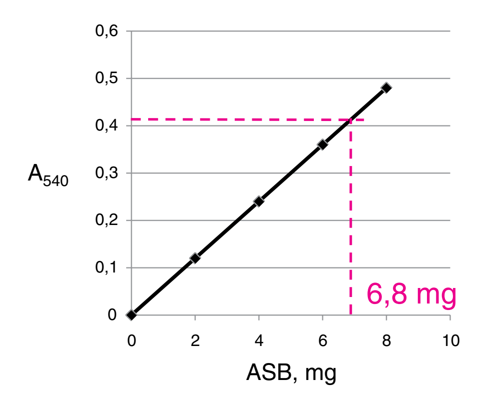
$$\varepsilon_{M,415} = \frac{A_{415}}{c_M \ell} = \frac{0,98 \times 64\ 500}{0,12 \times 1} = 527\ 000\ \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$$

6. COLORIMÉTRIE

De nombreuses substances dépourvues de propriétés d'absorption des UV ou de la lumière visible peuvent être détectées à l'aide d'un spectrophotomètre, grâce à l'utilisation d'un réactif qui engendre une coloration spécifique.

Nous prendrons comme exemple le dosage des protéines du sérum au moyen de la **méthode du biuret**. Cette méthode consiste à mélanger une dilution de sérum avec un réactif alcalin contenant des ions cuivriques (**réactif de Gornall**) ; en milieu fortement alcalin, les ions Cu^{++} forment avec les liaisons peptidiques des complexes de couleur rouge qui absorbent la lumière autour de 540 nm. Dans la pratique, l'absorbance de l'échantillon contenant le sérum étudié (dilué 10 fois) est confrontée aux valeurs d'absorbance d'une gamme étalon de protéine, généralement de l'**albumine de sérum bovin** (ASB) (tubes 1 à 5) :

Tube	ASB mg (dans 1 mL d'eau)	Sérum humain dilué 10 fois	Réactif de Gornall mL	A_{540}
1	0	–	4	0
2	2	–	4	0,12
3	4	–	4	0,24
4	6	–	4	0,36
5	8	–	4	0,48
6		1 mL	4	0,41



Compte tenu de la dilution préalable (au 1/10e), la concentration totale de protéine de ce sérum est estimée à 68 mg·mL^{-1}. Cette valeur se situe dans la fourchette des concentrations considérées comme normales : 60 à 85 mg·mL^{-1}.

15 Acides, bases, pH

Mots clés

Acide conjugué, base conjuguée, dissociation de l'eau, pH

1. IMPORTANCE DE LA NOTION DE pH

Un grand nombre de molécules biologiques, grandes ou petites, sont des acides ou des bases (ou les deux à la fois) ; leurs propriétés sont intimement liées à leur état d'ionisation, lequel est fonction du pH ambiant. Ainsi, la reconnaissance et la transformation des substrats par les enzymes, l'énergétique des réactions, les transports membranaires, les échanges gazeux, la respiration cellulaire, et de fait tous les processus biologiques, sont conditionnés par le pH des milieux dans lesquels ils se déroulent.

2. ACIDES ET BASES CONJUGUÉS

Un acide est une molécule qui se dissocie en donnant un proton. Cette dissociation donne également naissance à une base, qui se définit en retour comme une molécule pouvant fixer un proton. On parlera, au sens de **Brønsted**, de paire acide conjugué/base conjuguée :

$$\underset{\text{Acide conjugué}}{HA} \rightleftharpoons \underset{\text{Base conjuguée}}{A^-} + \underset{\text{proton}}{H^+}$$

Le proton pouvant s'associer à une autre base, on pourra considérer l'équilibre suivant entre deux paires acide conjugué/base conjuguée :

$$\underset{\text{Acide conjugué 1}}{HA} + \underset{\text{Base conjuguée 2}}{B} \rightleftharpoons \underset{\text{Base conjuguée 1}}{A^-} + \underset{\text{Acide conjugué 2}}{BH^+}$$

3. K_w, LE PRODUIT IONIQUE DE L'EAU

L'eau est une molécule **amphotère**, c'est-à-dire qu'elle se comporte à la fois comme un acide et comme une base ; dans la réaction suivante, l'une des deux molécules d'eau, un acide, se dissocie pour donner un ion hydroxyle (OH^-) et un proton (H^+) ; ce dernier se fixe sur la seconde molécule d'eau, une base, pour donner l'ion oxonium (H_3O^+) :

$$HOH + HOH \rightleftharpoons OH^- + H_3O^+$$

Des études de **conductimétrie** montrent que dans l'eau pure à 25 °C la concentration[1] des ions H_3O^+ est égale à 10^{-7} mol·L^{-1} ; la charge électrique positive de ces ions est contrebalancée par une concentration égale d'ions OH^-. Ce résultat permet d'introduire la constante K_w, le **produit ionique de l'eau** :

$$K_w = [H_3O^+][OH^-] = 10^{-7} \text{ x } 10^{-7} = 10^{-14}$$

L'eau pure contient des concentrations égales de H_3O^+ et OH^- ; cette égalité définit la neutralité acido-basique. Le produit ionique de l'eau est **indépendant de la composition**

1. En fait, il s'agit de l'activité de l'ion oxonium, H_3O^+ (Fiche 22).

des solutions aqueuses : si la concentration des ions H_3O^+ augmente, celle des ions OH^- diminue, le produit ionique restant est égal à 10^{-14}. Par contre, le produit ionique change avec la température.

4. DISSOCIATION DES ACIDES FORTS ET DES BASES FORTES

Un acide est qualifié d'acide fort s'il se dissocie pratiquement à 100 % dans l'eau ; par exemple, une solution aqueuse d'acide chlorhydrique à 10^{-3} mol · L^{-1} :

$$HCl \ + \ H_2O \ \longrightarrow \ H_3O^+ \ + \ Cl^-$$

Cette solution contient des ions Cl^- et des ions H_3O^+, chacun à la concentration de 10^{-3} mol · L^{-1}. Pour autant, **le produit ionique de l'eau, K_w, reste inchangé** (10^{-14}) : dans cette solution, la concentration des ions OH^- est égale à 10^{-11} mol · L^{-1}. La concentration des ions H_3O^+ surpasse celle des ions OH^-, c'est une solution acide.

Une base est qualifiée de base forte si elle se dissocie pratiquement à 100 % dans l'eau ; par exemple la soude, NaOH :

$$NaOH \ \longrightarrow \ Na^+ + OH^-$$

Une solution aqueuse de soude à 10^{-3} mol · L^{-1} contient 10^{-3} mol · L^{-1} d'ions OH^- et 10^{-11} mol · L^{-1} d'ions H_3O^+. La concentration des ions OH^- surpasse celle des ions H_3O^+ ; cette solution est basique (ou alcaline).

5. pH

Dans une étude sur les propriétés des enzymes (1909) le chimiste danois Søren Sørensen introduit la notion de pH dans le but d'alléger l'écriture de la concentration de l'ion H^+ (ou, plus exactement, son **activité**, cf. note précédente et la fiche 22). Le pH d'une solution est le cologarithme de la concentration de l'ion oxonium :

$$pH = \log\left(\frac{1}{[H_3O^+]}\right) = -\log([H_3O^+])$$

À 25 °C, le pH d'une solution neutre est égal à – log (10^{-7}) = 7. Les solutions de pH inférieurs à 7 sont acides, supérieurs à 7, alcalines.

Les solutions d'acide chlorhydrique et de soude du paragraphe précédent ont respectivement des pH de 3 et 11. Sauf quelques exceptions, les pH rencontrés chez les organismes vivants sont proches de la neutralité, ce que l'on doit aux effets tampon des fonctions acide faible et base faible des molécules biologiques, et principalement des protéines des cellules et des fluides biologiques (Fiche 18).

16 Tampons de pH

Mots clés

Acides faibles, bases faibles, Ka, pKa, tampons de pH

1. DISSOCIATION D'UN ACIDE FAIBLE

Alors qu'un acide fort se dissocie pratiquement à 100 % dans une solution aqueuse (Fiche 15), un acide faible se dissocie partiellement :

$$\underset{\text{Acide conjugué 1}}{HA} + \underset{\text{Base conjuguée 2}}{H_2O} \rightleftharpoons \underset{\text{Base conjuguée 1}}{A^-} + \underset{\text{Acide conjugué 2}}{H_3O^+} \quad (1)$$

Les protons libérés par la dissociation de l'acide forment des ions oxonium en s'associant à des molécules d'eau. La constante K_e traduit l'équilibre de cette réaction ; comme la concentration de l'eau est constante, on préfère considérer la constante K_a, constante de dissociation de l'acide HA :

$$K_e = \frac{[H_3O^+][A^-]}{[HA][H_2O]} \quad (2)$$

$$K_a = K_e \times [H_2O] = \frac{[H_3O^+][A^-]}{[HA]} \quad (3)$$

De la même manière que pH symbolise -log $[H_3O^+]$, pK_a symbolise – log K_a :

$$pK_a = log\frac{1}{K_a} = -logK_a \quad (4)$$

Un acide est d'autant plus faible que la constante de dissociation est faible, à l'inverse de la valeur du pK_a.

2. pH D'UN MÉLANGE D'ACIDE FAIBLE ET DE BASE FORTE

L'addition de base forte (exemple, NaOH) à une solution d'acide faible se traduit par la neutralisation des ions H_3O^+ par les ions OH^- pour donner des molécules d'eau :

$$H_3O^+ + OH^- \rightleftharpoons H_2O$$

Cette neutralisation provoque un déplacement de l'équilibre de la réaction 1 : la concentration de HA diminue, au profit du remplacement partiel des ions H_3O^+ et de l'augmentation de la concentration de A^-. L'équation 3 permet d'établir la relation entre le pH d'une solution, la valeur du pK_a d'un acide faible et le rapport des concentrations de l'acide et de la base conjugués correspondants :

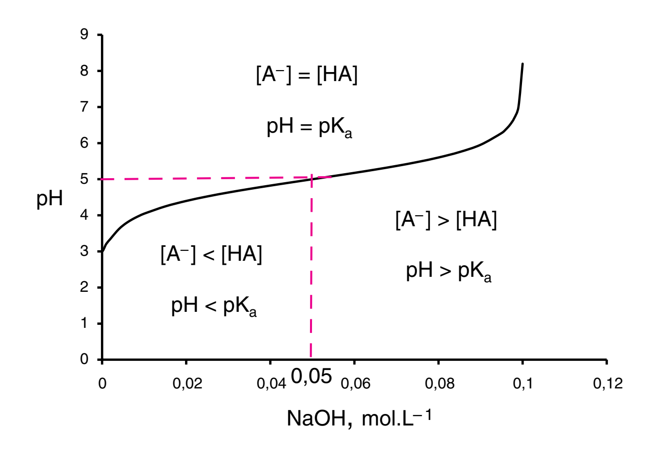
$$logK_a = log[H_3O^+] + log\left(\frac{[A^-]}{[HA]}\right); \; -log[H_3O^+] = -logK_a + log\left(\frac{[A^-]}{[HA]}\right);$$

$$pH = pK_a + log\left(\frac{[A^-]}{[HA]}\right) \quad (5)$$

L'équation 5, connue sous le nom d'équation d'Henderson-Hasselbalch, permet d'évaluer le pH d'une solution d'acide faible mélangé avec une base forte, pour autant que l'apport d'ions OH^- soit inférieur à la quantité initiale de l'acide HA. En particulier, si la base forte neutralise à 50 % l'acide HA, les concentrations de $[A^-]$ et [HA] sont égales, et log $([A^-]/[HA])$ = log 1 = 0 ; dans ce cas particulier,

$$pH = pK_a$$

Si la soude ajoutée neutralise moins que la moitié de [HA], $[A^-] < [HA]$, $[A^-]/[HA] < 1$, log $([A^-]/[HA]) < 0$, et $pH < pK_a$.
Si la soude ajoutée neutralise plus que la moitié de [HA], $[A^-] > [HA]$, $[A^-]/[HA] > 1$, log $([A–]/[HA]) > 0$, et $pH > pK_a$.
La figure suivante résume ces trois situations et montre l'évolution du pH d'une solution d'un acide faible ($pK_a = 5$) à la concentration de 0,1 mol. L^{-1} en présence de concentrations croissantes de soude.



3. TAMPON DE pH

Une solution d'acide faible partiellement neutralisée constitue un **tampon de pH** : la présence simultanée de l'acide conjugué et de la base conjuguée s'oppose à de fortes variations de pH consécutives à l'addition d'ions OH^- ou H^+. Cet **effet tampon** est particulièrement remarquable au voisinage de la demi–titration de l'acide (dans le cas présent, [NaOH] = 0,05 mol · L^{-1}).
L'addition d'ions OH^- neutralise les ions H_3O^+ présents, mais ces derniers sont pratiquement remplacés par une dissociation accrue de l'acide conjugué HA ; cette dissociation compense en grande partie l'addition des ions OH^-.
À l'inverse, si l'on ajoute des ions H^+, ils se fixent en grande partie sur la base conjuguée A^-, ce qui contribue à l'augmentation de la concentration de HA ; la base conjuguée absorbe la majorité des ions H^+ ajoutés.
En pratique, une solution d'acide faible exerce un **effet tampon** pour des valeurs de pH comprises entre pK_a –1 et pK_a +1 ; dans le cas présent, entre pH 4 et pH 6.

17 Solutions tampon

Mots clés

Tampons de pH, acide phosphorique, phosphate, TRIS, MES, HEPES, TES

1. INTÉRÊT DES SOLUTIONS TAMPON

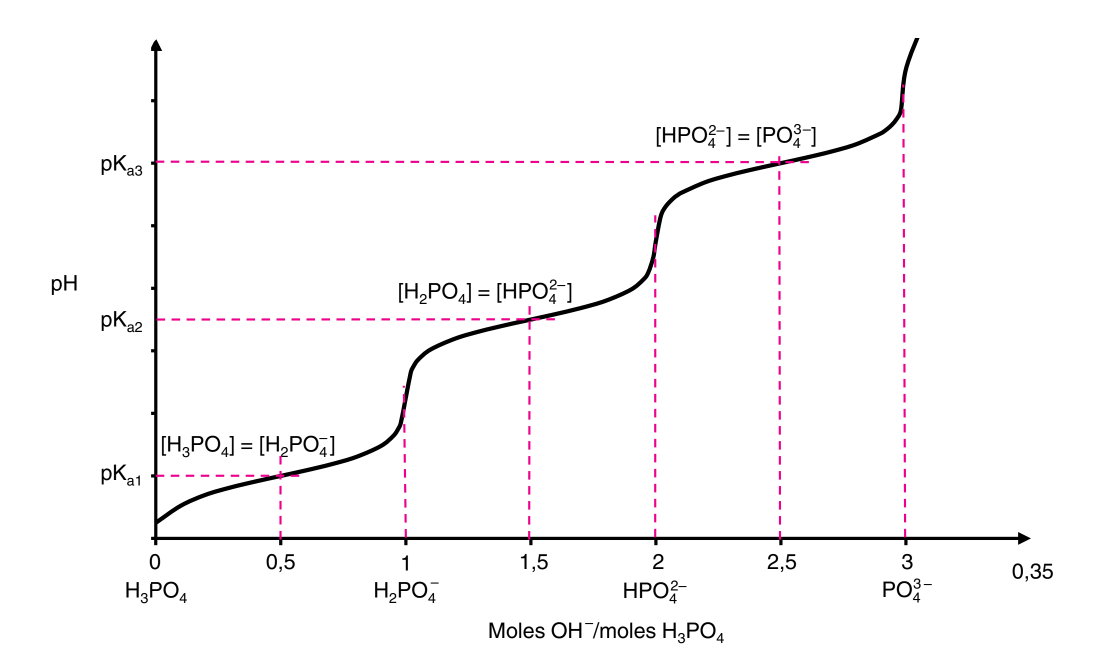
L'activité des enzymes dépend du pH, et l'activité d'une enzyme particulière est maximale à un pH spécifique, le **pH optimum** de cette enzyme. Il faut veiller à maintenir le pH à une valeur constante au cours d'une mesure d'activité enzymatique, a fortiori lorsque la réaction produit – ou consomme – des protons, et tend donc à modifier le pH du milieu. Les réactions enzymatiques doivent donc se dérouler dans des milieux tamponnés ; les tampons phosphate sont fréquemment employés pour maintenir le pH autour de la neutralité.

2. DISSOCIATION ET NEUTRALISATION DE L'ACIDE PHOSPHORIQUE

L'acide phosphorique H_3PO_4 est un triacide, donc caractérisé par trois réactions de dissociation :

$$H_3PO_4 + H_2O \rightleftharpoons H_2PO_4^- + H_3O^+ \quad K_{a1} = 7{,}5\ 10^{-3}\ ; \quad pK_{a1} = 2{,}1$$
$$H_2PO_4^- + H_2O \rightleftharpoons HPO_4^{2-} + H_3O^+ \quad K_{a2} = 6{,}2\ 10^{-8}\ ; \quad pK_{a2} = 7{,}2$$
$$HPO_4^{2-} + H_2O \rightleftharpoons PO_4^{3-} + H_3O^+ \quad K_{a3} = 4{,}8\ 10^{-13}\ ; \quad pK_{a3} = 12{,}3$$

Les fonctions acide sont neutralisées par addition de base forte (NaOH) :



L'addition de 3 moles de soude par mole d'acide phosphorique permet de neutraliser les trois fonctions acides ; on obtient successivement les trois ions $H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-} et PO_4^{3-}. Au niveau de chaque demi–titration, c'est-à-dire après l'addition de 0,5, 1,5 et 2,5 moles de soude par mole d'acide phosphorique, le pH devient respectivement égal à pK_{a1} ($[H_3PO_4] = [H_2PO_4^-]$), pK_{a2} ($[H_2PO_4^-] = [HPO_4^{2-}]$) puis pK_{a3} ($[HPO_4^{2-}] = [PO_4^{3-}]$). Chacune des trois titrations détermine une zone tampon autour de chacun des trois pK_a.

3. EXEMPLES DE COMPOSITION DE TAMPONS PHOSPHATE

- **Tampon phosphate 0,05 mol·L^{-1}, pH 7,2 :**

pH 7,2 correspond au point de demi–neutralisation de la deuxième fonction acide de l'acide phosphorique (pK_{a2}). Les espèces ioniques en présence sont $H_2PO_4^-$ et HPO_4^{2-}, à concentrations égales. La concentration totale du phosphate étant 0,05 mol·L^{-1}, les deux espèces ioniques sont chacune à la concentration de 0,025 mol·L^{-1}. La préparation d'un litre de tampon phosphate de sodium 0,05 mol·L^{-1} pH 7,2 nécessitera 0,025 mole de NaH_2PO_4 et 0,025 mole de Na_2HPO_4.

- **Tampon phosphate 0,045 mol·L^{-1}, pH 7,5 :**

comme 7,5 – 7,2 = 0,3 < 1, ce pH est compris dans la zone tampon de la deuxième fonction acide de l'acide phosphorique. Pour connaître les proportions des deux espèces ioniques $H_2PO_4^-$ et HPO_4^{2-}, on utilise l'équation de Henderson-Hasselbalch (Fiche 16) :

$$pH = pK_a + \log\left(\frac{[A^-]}{[HA]}\right) = 7{,}2 + \log\left(\frac{[HPO_4^{2-}]}{[H_2PO_4^-]}\right)$$

$$\log\left(\frac{[HPO_4^{2-}]}{[H_2PO_4^-]}\right) = 7{,}5 - 7{,}2 = 0{,}3 \quad ; \quad \frac{[HPO_4^{2-}]}{[H_2PO_4^-]} = 10^{0{,}3} = 2$$

Les deux espèces ioniques HPO_4^{2-} et $H_2PO_4^-$ sont dans le rapport 2 : 1 ; la préparation d'un litre de tampon phosphate de sodium 0,045 mol·L^{-1} nécessitera 0,03 mole de Na_2HPO_4 et 0,015 mole de NaH_2PO_4.

4. TAMPONS SYNTHÉTIQUES

Les ions phosphate présentent des inconvénients car ils interfèrent avec un grand nombre de réactions enzymatiques (par exemple, ils inhibent les phosphatases). L'utilisation de molécules biochimiques (acides carboxyliques, aminoacides, etc.) fait également courir le risque d'une interférence avec des réactions enzymatiques. Aussi, préfère-t-on souvent utiliser des tampons synthétiques sans ressemblance structurale avec les molécules biochimiques ; quelques exemples :

Tampon (acronyme)	Nom complet	Acide conjugué	Base conjuguée	pK_a
TRIS	Tris(hydroxyméthyl)aminométhane	TRIS-H$^+$	TRIS°	8,1
HEPES	Acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique	HEPES-H	HEPES$^-$	7,5
TES	Acide *N*-Tris(hydroxyméthyl) méthyl-2-aminoéthanesulfonique	TES-H	TES$^-$	7,4
MES	Acide 2-(*N*-morpholino)éthanesulfonique	MES-H	MES$^-$	6,1

18 pH du sang

Mots clés

CO_2, pH, sang, hémoglobine, hydrogénocarbonate

1. EFFICACITÉ DES TAMPONS PHYSIOLOGIQUES

Le métabolisme d'un être humain moyen (75 kg) produit environ 20 moles de dioxyde de carbone (CO_2) en l'espace de 24 heures ; 20 moles, c'est aussi environ 900 g ou près de 500 litres (à 37 °C). Réagissant avec l'eau, CO_2 se transforme en une molécule d'acide carbonique dont la dissociation conduit à l'ion hydrogénocarbonate plus un ion H^+ :

$$\underset{\text{Dioxyde de carbone}}{CO_2} + \underset{\text{Eau}}{H_2O} \rightleftharpoons \underset{\text{Acide carbonique}}{H_2CO_3} \rightleftharpoons \underset{\text{Hydrogéno-carbonate}}{HCO_3^-} + H^+ \quad (1)$$

La production quotidienne de 20 moles de CO_2 se traduit par l'apparition d'environ 19 moles d'ions H^+ (voir ci-dessous, § 2). Bien sûr, le corps humain élimine le dioxyde de carbone au niveau des alvéoles pulmonaires où se déroule la réaction inverse, ce qui permet d'éliminer les ions H^+ formés précédemment :

$$\underset{\text{Hydrogéno-carbonate}}{HCO_3^-} + H^+ \rightleftharpoons \underset{\text{Acide carbonique}}{H_2CO_3} \rightleftharpoons \underset{\text{Dioxyde de carbone}}{CO_2} + \underset{\text{Eau}}{H_2O} \quad (2)$$

Il reste néanmoins que ces ions H^+ sont produits par l'organisme et sont transportés jusqu'aux poumons sans que le pH des cellules, ou ceux des fluides corporels ne soient sensiblement modifiés ; par exemple, le pH du sang se maintient à la valeur moyenne de 7,4, et les variations que l'on enregistre dans différentes conditions physiologiques (repos, digestion, exercice physique, etc.) sont en temps normal de quelques centièmes d'unité ($7,35 < pH < 7,45$).

2. TRANSPORT DU CO_2 PAR LE SANG

Au cours de son périple dans l'organisme, le sang artériel s'enrichit progressivement en CO_2.

- Une faible proportion de dioxyde de carbone (5 %) est transportée tel que, sous forme dissoute, mais l'essentiel du CO_2 apparaît sous forme combinée.
- CO_2 réagit avec les fonctions α-aminées des protéines pour donner des dérivés carbamino, avec formation de H^+ :

$$\alpha\text{–}NH_2 + CO_2 \rightleftharpoons \alpha\text{–}NH\text{–}COO^- + H^+ \quad (3)$$

- On retrouve environ 5 % du CO_2 lié sous forme carbamino, essentiellement avec l'hémoglobine, plus une très faible proportion avec les protéines plasmatiques.
- 90 % du dioxyde de carbone se présente dans le sang sous forme d'hydrogénocarbonate. La réaction 1, qui se déroule lentement dans l'eau, est considérablement accélérée par l'**anhydrase carbonique** des globules rouges.

Espèce ou combinaison	Sang artériel $mmol \cdot L^{-1}$	Sang veineux $mmol \cdot L^{-1}$
CO_2 dissous	1,2	1,5
α-NH-COO⁻	1,0	1,7
HCO_3^-	19,6	21,0
Total	21,8	24,2

Le sang veineux se trouve enrichi de 2,4 $mmol \cdot L^{-1}$ en CO_2 par rapport au sang artériel, sans modification importante du pH.

3. TAMPONS DU SANG

Le sang est donc un milieu tamponné. Les protons issus des combinaisons de CO_2 se fixent essentiellement sur les bases conjuguées de quatre tampons :

Tampon	Concentration sanguine $mmol \cdot L^{-1}$	Base conjuguée	Acide conjugué	Proportion des protons fixés (%)
Hémoglobine	2,3	Hb	$Hb\text{-}H^+$	75
Albumine	0,7	HSA	$HSA\text{-}H^+$	13
Hydrogénocarbonate	22	HCO_3^-	H_2CO_3/CO_2	6
Phosphate	2	HPO_4^{2-}	$H_2PO_4^-$	1,5

Le tamponnement du pH sanguin est assuré à près de 90 % par les protéines, en premier lieu par l'hémoglobine, et dans une moindre mesure par l'albumine du sérum (HSA). Des chaînes latérales acides et basiques de résidus d'amino-acides sont responsables de cet effet tampon (Fiches 34, 35).

- L'importance de l'hémoglobine vient de sa concentration élevée, mais aussi de ses propriétés particulières. L'hémoglobine oxygénée (HbO_2) se révèle être un acide plus fort que l'hémoglobine désoxygénée (Hb). En d'autres termes, l'hémoglobine désoxygénée fixe plus fortement les protons que l'hémoglobine oxygénée, de telle manière que l'échange suivant se produit au niveau des tissus :

$$HbO_2 + H^+ \rightleftharpoons Hb\text{–}H^+ + O_2$$

  Les ions H^+, issus de la réaction entre H_2O et le CO_2 produit par le métabolisme cellulaire, sont échangés contre l'oxygène nécessaire à la respiration cellulaire, favorisant ainsi la réalisation du métabolisme.

- Le système $CO_2/H_2CO_3/HCO_3^-$, dont le pK_a est égal à 6,1, joue un rôle mineur dans le tamponnement du sang ; le pH moyen du sang, 7,4, se situe hors de la zone d'efficacité du tampon, définie par $pK_a \pm 1$, soit 5,1-7,1 (Fiche 16).

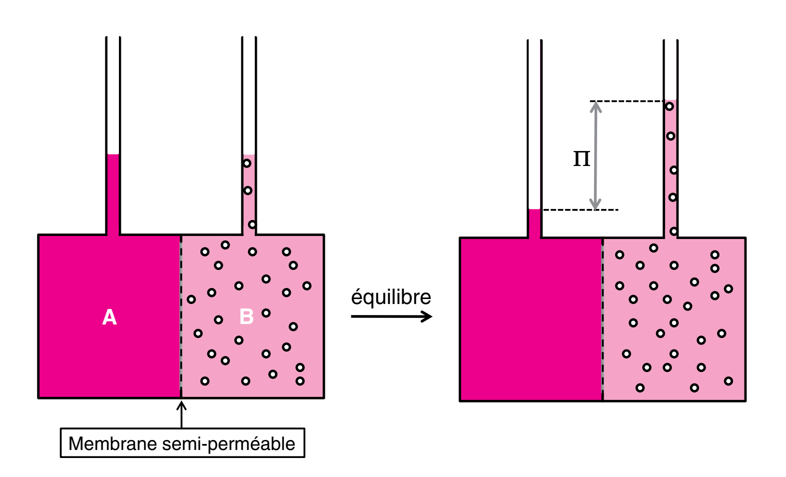
19 Pression osmotique

Mots clés

Potentiel chimique, pression osmotique, Vant'Hoff, osmolarité, propriété colligative

1. MISE EN ÉVIDENCE DE LA PRESSION OSMOTIQUE

Une membrane semi-perméable divise une enceinte en deux chambres A et B qui renferment, respectivement, de l'eau et une solution aqueuse d'une macromolécule de concentration molaire $[i]$. La membrane laisse passer les molécules d'eau mais se révèle imperméable à la macromolécule. Chacune des deux chambres communique avec un tube vertical ; au début de l'observation les deux ménisques sont au même niveau.



Progressivement le niveau baisse à gauche et monte à droite ; on atteint l'équilibre lorsque la colonne de soluté exerce une pression Π (lettre grecque *pi* majuscule), sur le compartiment de droite. En supposant la solution idéale, la pression Π (pression osmotique) vérifie la relation de Van't Hoff :

$$\Pi = RT[i] \quad (1)$$

Où R est la constante des gaz parfaits et T la température absolue.

2. ORIGINE DE LA PRESSION OSMOTIQUE

L'effet osmotique (du grec *ôsmos*, poussée) est dû à la tendance du solvant à égaliser son potentiel chimique de part et d'autre de la membrane : au début de l'observation le potentiel chimique de l'eau est plus élevé dans le compartiment A que dans le compartiment B (solution). La surpression observée à l'équilibre est suffisante pour égaliser les potentiels chimiques de part et d'autre de la membrane.

3. MESURE DES MASSES MOLAIRES

Si l'on remarque que la concentration molaire est égale au quotient de la concentration pondérale c par la masse molaire M :

$$[i] = \frac{c}{M} \tag{2}$$

La relation de Vant'Hoff devient :

$$\Pi = RT\frac{c}{M} \tag{3}$$

d'où

$$M = \frac{RTc}{\Pi} \tag{4}$$

La mesure de la pression osmotique des solutions d'une macromolécule permet d'accéder à sa masse molaire.

4. IMPLICATIONS DE LA PRESSION OSMOTIQUE

La pression osmotique est un exemple de **propriété colligative** des solutions, c'est-à-dire une propriété dont l'intensité est fonction de la concentration de la molécule, littéralement du nombre de particules en suspension (du latin *colligere* réunir) et non de leurs propriétés chimiques.

Pour calculer la pression osmotique d'une solution, on fait le recensement de toutes les particules en solution, ions et molécules non dissociées ; cette concentration, ou osmolarité, est définie en termes d'osmoles. Une solution idéale de chlorure de sodium 0,1 $mol \cdot L^{-1}$ correspond à une osmolarité de 0,2 $osmol \cdot L^{-1}$ (200 $milliosmol \cdot L^{-1}$).

La pression osmotique des fluides corporels évolue dans des limites étroites ; par exemple, celle du plasma sanguin est maintenue entre 280 et 300 $milliosmol \cdot L^{-1}$. Une solution de chlorure de sodium à 9 $g \cdot L^{-1}$ est iso-osmotique du plasma sanguin. Les liquides de perfusion sont également iso-osmotiques du plasma ; leur osmolarité prend en compte tous les ions présents et toutes les molécules non dissociées présentes dans la solution (Na^+, Cl^-, glucose, etc.).

Les globules rouges éclatent si on les disperse dans l'eau pure (phénomène d'hémolyse) car la pression osmotique qui s'exerce sur leur membrane est très élevée ; si l'on retient $R = 8{,}31\ 10^3\ L \cdot Pa \cdot K^{-1} \cdot mol^{-1}$, $T = 310$ K et $[i] = 0{,}290\ osmol \cdot L^{-1}$:

$$\Pi = RT\,[i] = 8{,}31\ 10^3 \times 310 \times 0{,}290 = 7{,}47\ 10^5\ \text{Pa}, \tag{5}$$

en somme, une pression d'environ 7,5 atmosphères, plus élevée que la pression du gaz carbonique dans une bouteille de champagne (~ 6 atmosphères).

20 Systèmes, principes et fonctions thermodynamiques

Mots clés

Principes thermodynamiques, systèmes isolés, fermés, ouverts, entropie, enthalpie libre

1. OBJECTIF

Passer en revue les principes de la thermodynamique pour arriver à l'expression de l'**enthalpie libre** G, la **fonction d'état** la mieux adaptée à la description des systèmes et des réactions chimiques.

2. SYSTÈMES THERMODYNAMIQUES

Le fonctionnement des machines thermiques a constitué le premier sujet d'étude de la thermodynamique, une science dont les concepts ont été par la suite adaptés à la description des réactions chimiques. Bien que ces sujets d'étude soient effectivement concrets, les systèmes thermodynamiques sur lesquels se porte la réflexion sont le plus souvent des objets abstraits, des portions de l'espace où l'on construit des expériences de pensée. On distingue trois types de systèmes :

- Les **systèmes isolés** ; ils n'échangent ni matière ni énergie avec leur environnement.
- Les **systèmes fermés** qui échangent de l'énergie avec l'extérieur, mais n'échangent pas de matière.
- Les **systèmes ouverts** qui échangent de l'énergie et de la matière avec l'extérieur.

Ces systèmes sont décrits en utilisant des paramètres mesurables, les variables d'état macroscopiques : température (T), pression (P), volume (V), nombre de moles des constituants chimiques de la réaction (N_k). Les raisonnements, fondés sur les deux principes de la thermodynamique, permettent de définir des fonctions d'état et de calculer leurs variations lorsqu'un système passe d'un état initial à un état final. De ce fait, on reste dans le cadre de la thermodynamique classique, en ignorant tout à la fois :

- le chemin parcouru (le mécanisme de la transformation)
- et le temps écoulé pour passer de l'état initial à l'état final.

Le chemin parcouru et le temps écoulé sont du ressort de la **thermodynamique des processus irréversibles**.

3. LE PREMIER PRINCIPE ET L'ÉNERGIE

Lorsqu'un système est le siège d'une transformation, la somme algébrique des variations de chaleur et de travail effectué, indépendante du chemin parcouru, est uniquement fonction de l'état initial et de l'état final du système.

On définit la variation d'énergie interne ΔU :

$$\Delta U = q + w \tag{1}$$

où q et w représentent respectivement les quantités de chaleur et de travail échangés entre le système et l'extérieur ; q et w, exprimés en Joules, sont comptés négativement s'ils sont produits par le système, et positivement dans le cas inverse. Les variations individuelles

de q et w dépendent des mécanismes utilisés – le chemin parcouru – et donc ne sont pas des fonctions d'état.

L'énergie interne U, fonction d'état, recense l'énergie de liaison des atomes, et les énergies cinétiques (vibration, rotation, translation). Les variations d'énergie interne ΔU correspondent à l'échange de chaleur entre le système et l'extérieur si le volume du système reste constant pendant la transformation. Les variations d'énergie interne sont mesurées à l'aide de calorimètres fermés (enceintes indéformables).

La plupart du temps, les réactions chimiques se déroulent à pression constante, généralement à la pression atmosphérique. Pour tenir compte du travail mécanique consécutif à d'éventuelles variations de volume, on définit une nouvelle fonction d'état, l'**enthalpie**, H :

$$H = U + PV \tag{2}$$

et sa variation à pression constante :

$$\Delta H = \Delta U + P\Delta V \tag{3}$$

Exprimée en Joules, la variation d'enthalpie correspond à l'échange de chaleur entre le système et l'extérieur au cours de la réaction lorsqu'elle se déroule à pression constante.

Les réactions caractérisées par ΔU ou $\Delta H < 0$ produisent de la chaleur ; on les qualifie de réactions exothermiques. À l'inverse, les réactions caractérisées par ΔU ou $\Delta H > 0$ sont qualifiées de réactions endothermiques.

4. LE DEUXIÈME PRINCIPE ET L'ENTROPIE

Introduite par Rudolf Clausius en 1865, l'entropie, S, trouve son origine dans les travaux de Carnot sur le rendement des machines thermiques.

La variation d'entropie d'un système au cours d'une transformation réversible est égale au quotient de la quantité de chaleur échangée q par la **température absolue** T ; sous la forme différentielle :

$$dS = \frac{dq}{T} \tag{4}$$

Si la température du système reste constante, la variation d'entropie ΔS est égale à q/T :

$$\Delta S = \frac{q}{T} \tag{5}$$

Le deuxième principe énonce que l'évolution spontanée d'un système isolé s'accompagne toujours d'une augmentation d'entropie. L'entropie (unité $\text{Joule} \cdot \text{Kelvin}^{-1}$) est une fonction d'état : la variation d'entropie d'un système ne dépend que de l'entropie de l'état initial et de l'entropie de l'état final.

La portée du deuxième principe apparaît dès lors que l'on considère la variation d'entropie d'un système fermé (ΔS_{sys}) et celle de son environnement (ΔS_{env}). En effet, si l'on considère que l'ensemble {système fermé + environnement} constitue un système isolé, le deuxième principe prévoit que l'entropie totale (ΔS_{tot}) ne peut qu'augmenter au cours de la transformation :

$$\Delta S_{tot} = \Delta S_{sys} + \Delta S_{env} > 0 \tag{6}$$

Une réaction est donc spontanée pour peu que la somme des variations d'entropie du système et de son environnement soit de signe positif.

5. G, ÉNERGIE LIBRE DE GIBBS OU ENTHAPIE LIBRE

L'enthalpie libre G (en référence à Josiah Willard Gibbs) est une fonction d'état qui prend en compte le premier et le deuxième principe. On considère un système fermé, qui n'échange donc que de l'énergie avec son environnement. On suppose que l'ensemble {système fermé + environnement} constitue un système isolé ; donc, une variation d'enthalpie du système fermé (ΔH_{sys}) est exactement compensée par une variation d'enthalpie égale et de signe opposé dans l'environnement (ΔH_{env}) :

$$\Delta H_{\text{sys}} = -\Delta H_{\text{env}} \tag{7}$$

À température constante, l'environnement et le système seront le siège de variations d'entropie de telle manière que :

$$\Delta S_{env} = \frac{\Delta H_{env}}{T} = -\frac{\Delta H_{sys}}{T} \tag{8}$$

En combinant cette relation avec la relation 6, on obtient une nouvelle relation entre la variation d'entropie du système isolé (ΔS_{tot}) et les variations d'enthalpie et d'entropie du système fermé :

$$\Delta S_{tot} = \Delta S_{env} + \Delta S_{sys} = -\frac{\Delta H_{sys}}{T} + \Delta S_{sys} > 0 \tag{9}$$

Cette relation conduit à :

$$T\Delta S_{\text{tot}} = -\Delta H_{\text{sys}} + T\Delta S_{\text{sys}} > 0 \tag{10}$$

Ou encore :

$$-T\Delta S_{\text{tot}} = \Delta H_{\text{sys}} - T\Delta S_{\text{sys}} < 0 \tag{11}$$

Cette relation fait apparaître la variation ΔG de l'enthalpie libre (ou énergie libre de Gibbs, $G = H - TS$) à température et pression constantes :

$$\Delta G_{\text{P,T}} = \Delta H_{\text{P,T}} - T\Delta S_{\text{P,T}} \tag{12}$$

Une réaction spontanée est caractérisée par $\Delta G < 0$; si $\Delta G = 0$, la réaction est à l'équilibre. Si $\Delta G > 0$, on est en présence d'une réaction non spontanée. L'enthalpie libre G est une fonction d'état ; la variation d'enthalpie libre ΔG ne dépend que de l'état initial et de l'état final. Si l'on substitue l'enthalpie H par l'énergie interne U dans l'équation 12, on obtient l'expression de l'énergie libre F ou énergie libre de Helmholtz, fonction d'état qui permet de prédire l'évolution des systèmes lorsque le volume et la température sont constants.

6. SIGNIFICATION DE L'ENTHAPIE LIBRE

La variation d'enthalpie libre représente l'énergie disponible pour effectuer un travail, dans le cas présent un travail chimique, c'est-à-dire la transformation de réactifs en produits, lorsque la pression et la température sont constantes. Les réactions spontanées, caractérisées par $\Delta G < 0$, capables de réaliser un travail seront qualifiées de réactions exergoniques (du grec *ergos*, travail) alors que les réactions non spontanées, caractérisées par $\Delta G > 0$ seront qualifiées de réactions endergoniques. Une réaction endergonique peut néanmoins se réaliser si elle est couplée avec une deuxième réaction pour autant que la

réaction globale, le résultat de la somme des deux réactions, soit elle-même exergonique, c'est-à-dire caractérisée par $\Delta G < 0$. Les voies métaboliques présentent de très nombreux exemples de couplages réactionnels de ce type (voir par exemple les fiches 32, 33, 79, 83).

7. SIGNIFICATION DE L'ENTROPIE

La notion d'entropie est quelque peu abstraite, et l'on a coutume de l'assimiler d'une manière plus imagée à une mesure du désordre. Une illustration simple de variation d'entropie nous est donnée par le phénomène de changement de phase solide-liquide ou liquide-vapeur. La température de fusion d'un solide, ou la température d'ébullition d'un liquide restent constantes pendant la transition de phase. Aussi, il devient très facile de calculer les variations d'entropie correspondantes, car l'intégralité de la chaleur est absorbée au cours de la transition. Par exemple, pour la transition solide – liquide à pression constante :

$$\Delta S_{fusion} = \frac{\Delta H_{fusion}}{T_{fusion}} \tag{13}$$

À la pression atmosphérique, la fusion de la glace intervient à 273,15 K (0 °C) et l'enthalpie de fusion est égale à 6 000 $J \cdot mol^{-1}$. La fusion d'une mole d'eau se traduit donc par une variation d'entropie $\Delta S_{fusion} = 6\,000 : 273{,}15 = 21{,}97\ J \cdot K^{-1} \cdot mol^{-1}$. Le liquide présente donc une entropie plus élevée que le solide dont il est issu ; le désordre des molécules d'eau est plus élevé dans l'eau liquide que dans la glace.

Les êtres vivants sont pour leur part des systèmes très organisés. Pour autant, leur existence et leur fonctionnement ne contredisent en rien le deuxième principe. En effet, on montre facilement que l'organisation des êtres vivants se trouve largement compensée par une augmentation d'entropie de leur environnement. Par exemple, le repliement d'une chaîne polypeptidique aboutit à la formation d'une structure très organisée, comme une enzyme douée de propriétés catalytiques ; si l'établissement de cette structure est accompagné d'une diminution de l'entropie de la chaîne polypeptidique, cette diminution d'entropie est largement compensée par l'augmentation de l'entropie des molécules d'eau qui accompagne ce repliement. L'examen du métabolisme permet d'aboutir à un constat similaire : les êtres vivants maintiennent leur structure en rejetant dans l'environnement des molécules (CO_2, H_2O) dont l'entropie est plus élevée que celles des aliments dont ils se nourrissent (glucides, protéines, lipides).

21 État standard en biochimie

Mots clés

États standards

1. OBJECTIFS DES FICHES 21 À 28

La prévision du sens d'évolution d'une réaction ou la description d'un l'équilibre sont rendues possibles dès lors que l'on connaît la valeur de l'**enthalpie libre de réaction**, $\Delta_r G'$. Pour pouvoir établir cette grandeur on définira, pas à pas, les notions suivantes :

- les conditions d'état standard spécifiques aux réactions biochimiques (Fiche 21),
- le **potentiel chimique** μ'_i et **l'activité des solutés** a_i (Fiche 22),
- la **variable d'avancement** ξ' et les **grandeurs de réaction** qui en dérivent (Fiche 23),
- l'**enthalpie libre standard de formation** $\Delta_f G'^\circ$ et l'**enthalpie libre standard de réaction** $\Delta_r G'^\circ$ (Fiche 24),
- les **critères d'évolution spontanée** d'une réaction, fondés sur les valeurs de la **constante d'équilibre** $K'_{éq}$ et du **quotient de réaction** Q' (Fiche 25),
- l'enthalpie libre de réaction calculée à partir des **potentiels de demi-réduction** E'° des constituants d'une réaction d'oxydo-réduction (Fiche 26).

La fiche 27 montre la véritable nature de l'enthalpie libre de réaction et sa variation au cours de l'évolution spontanée d'un système jusqu'à l'établissement de l'équilibre.

Trois réactions typiques du métabolisme cellulaire sont ensuite prises en exemple (Fiche 28) pour montrer comment, *in vivo*, le quotient de réaction Q' peut influer sur le sens d'évolution d'une réaction. Dans la même fiche, l'exemple d'une quatrième réaction montre comment un **couplage énergétique** favorable permet d'inverser le sens d'évolution d'une réaction initialement qualifiée de non spontanée et irréversible.

2. ÉTAT STANDARD

On ne mesure pas les valeurs absolues d'énergie, mais seulement des différences d'énergie entre différents états d'un système. Aussi, il est nécessaire de définir un état qui servira de référence, l'état standard :

- Généralement on retient la température de 25 °C (298,15 K), mais on peut concevoir des états standards à des températures différentes.
- L'état standard des éléments et des composés purs est représenté par leur forme la plus stable à une pression de 1 bar (10^5 Pa).
- La concentration de H^+ est fixée à 10^{-7}mol · L^{-1} (pH = 7).
- Pour tous les autres solutés, l'état standard est celui d'une **solution idéale** ($\gamma = 1$, voir Fiche 22) de concentration $C_i = 1$ mol · L^{-1}.
- Tout composé à l'état standard possède une activité (Fiche 22) égale à 1, y compris l'eau (bien que sa concentration soit de 55,6 mol · L^{-1}), et H^+ (bien que sa concentration soit de 10^{-7} mol · L^{-1}).

- La concentration d'une molécule ionisable est égale à la somme des concentrations de toutes les espèces (ionisées et non-ionisées) qui représentent la molécule dans une solution à pH 7 - que cette molécule soit à l'état standard ou non.

3. COMMENTAIRES SUR L'ÉTAT STANDARD ADOPTÉ EN BIOCHIMIE

L'addition du symbole prime « ' » (ex : $\Delta_f G'^\circ$,μ'_i, $K'_{éq}$, etc.) signale l'adoption de conventions particulières d'état standard en ce qui concerne le pH et l'activité de H^+. En chimie physique, l'état standard de H^+ est une solution idéale à 1 mol·L^{-1}(activité = 1, pH = 0). En biochimie, l'état standard de H^+ est une solution idéale à 10^{-7} mol·L^{-1} et l'activité de H^+ est fixée à 1.

La grande majorité des composés biochimiques sont des molécules ionisées ; la nature et la distribution des charges électriques d'une molécule font partie de son identité et conditionnent son activité biologique (par exemple, une enzyme). L'éventail des pK_a des fonctions ionisables s'étend de ~2 à ~13 ; si l'on conserve pour H^+ la convention adoptée en chimie physique, pH 0, toutes les fonctions ionisables deviennent uniformément protonées et les molécules biologiques perdent alors leur identité. Les grandeurs de réaction (enthalpie libre standard de formation $\Delta_f G'^\circ$, etc.) mesurées à cet état standard ne permettent pas de se faire une idée du comportement des molécules biologiques au pH où effectivement elles fonctionnent. Comme les pH physiologiques sont le plus souvent proches de la neutralité, le choix de pH 7 est raisonnable.

Compte tenu de cette convention particulière, les grandeurs comme les enthalpies standard de formation $\Delta_f G'^\circ$ ou les constantes d'équilibre $K'_{éq}$ diffèrent de celles que l'on trouve dans les tables de chimie physique pour les mêmes réactions ; il s'agit en biochimie de grandeurs transformées en fonction de la convention particulière de pH (**transformations de Legendre**).

La concentration d'une molécule ionisée est égale à la somme des concentrations des différentes formes qui coexistent à un pH donné. S'agissant par exemple du phosphate à pH 7, les calculs prennent en compte la somme des concentrations des espèces en présence : $[H_3PO_4]$ + $[H_2PO_4^-]$ + $[HPO_4^{2-}]$ + $[PO_4^{3-}]$ (somme symbolisée par [Pi], pour Phosphate inorganique). La même convention s'applique à toutes les molécules ionisées : esters de phosphate, aminoacides, peptides, enzymes, acides nucléiques, etc.

22 Potentiel chimique, activité d'un soluté

Mots clés

Potentiel chimique, activité, coefficient d'activité

1. POTENTIEL CHIMIQUE À T, P ET pH CONSTANTS

Le potentiel chimique μ_i' d'un constituant i est la dérivée partielle de l'enthalpie libre d'un système par rapport à la quantité n_i de ce constituant ; la température, la pression et les quantités des autres constituants (j) sont considérés comme constants :

$$\mu_i' = \left(\frac{\partial G'}{\partial n_i}\right)_{T,P,pH,\ n_{j\neq i}} \qquad (1)$$

Le potentiel chimique (en $J \cdot mol^{-1}$) d'un constituant i dans une phase condensée (liquide) est donné par la relation :

$$\mu_i' = \mu_i'^0 + RT\ Log\ a_i \qquad (2)$$

- μ_i' ($J \cdot mol^{-1}$) est le **potentiel chimique** de *i* (ou **enthalpie libre molaire partielle** de *i*) ;
- $\mu_i'^0$ ($J \cdot mol^{-1}$) est le **potentiel chimique standard**, ou **enthalpie libre standard** du composé *i*.
- *R* est la constante des gaz parfaits (8,31 $J \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$), *T* la température absolue (K) et a_i l'activité du constituant i.

2. ACTIVITÉ D'UN SOLUTÉ

L'activité d'un soluté est associée à sa concentration molaire, mais c'est une grandeur sans dimension. L'activité a_i d'un soluté i est donnée par la formule :

$$a_i = \gamma_i \frac{C_i}{C_i^o} \qquad (3)$$

- γ_i est le coefficient d'activité du composé i. C'est un nombre sans dimension qui permet de corriger les termes de concentration selon l'ampleur des interactions entre les espèces présentes dans la solution. En règle générale, $\gamma \neq 1$, ce qui caractérise les **solutions réelles**, alors que $\gamma = 1$ caractérise les **solutions idéales** (aucune interaction).
- C_i représente la concentration molaire du composé i dans la solution.
- C_i^o est la concentration molaire du composé i à l'état standard, représenté par convention par une solution supposée idéale de i à la concentration de 1 $mol \cdot L^{-1}$. Pour tout soluté, $C_i^o = 1\ mol \cdot L^{-1}$.

Pour des raisons pratiques, on simplifie l'expression de l'activité :

- On considère dans toutes les fiches suivantes que le coefficient d'activité de chacun des constituants des systèmes thermodynamiques décrits est égal à l'unité ($\gamma = 1$). Cette approximation est souvent justifiée car le coefficient d'activité est proche de 1 pour les

solutions de solutés dont la concentration est inférieure à 10^{-3} mol·L^{-1} (1 mmol·L^{-1}), et c'est pratiquement le cas pour la majorité des métabolites.

- Par commodité, on ne mentionnera pas C_i^o dans l'expression de l'activité.

Compte tenu de cette approximation et de cette simplification, l'expression de l'activité se confond numériquement avec la concentration molaire du constituant :

$$a_i \equiv C_i = [i] \tag{4}$$

Et l'expression du potentiel chimique s'écrira :

$$\boxed{\mu_i' = \mu_i'^0 + RT\ Log\ [i]} \tag{5}$$

23 Grandeurs de réaction

Mots clés

Coefficients stœchiométriques, variable d'avancement, grandeurs de réaction

1. EN BREF

Les grandeurs de réaction comme l'**enthalpie libre de réaction $\Delta_r G'$**, l'**enthalpie de réaction $\Delta_r H'$** et l'**entropie de réaction $\Delta_r S'$** représentent les dérivées des fonctions d'état correspondantes, G', H', S', par rapport à la variable d'avancement ξ'.

2. COEFFICIENTS STŒCHIOMÉTRIQUES

Soit la réaction générale suivante :

$$\nu_A A \; + \; \nu_B B \; \rightleftharpoons \; \nu_C C \; + \; \nu_D D \qquad (1)$$

où les réactifs A et B se transforment en produits C et D. Les coefficients ν_i (lettre grecque « *nu* ») indiquent le nombre de molécules de chacun des réactifs et des produits qui participent à la réaction : ν_A molécules de A réagissent avec ν_B molécules de B pour donner ν_C molécules de C plus ν_D molécules de D. Ces nombres sont appelés **coefficients stœchiométriques** ; ce sont des nombres sans dimension.

3. VARIABLE D'AVANCEMENT DE LA RÉACTION

La variable d'avancement (variable de **de Donder**) décrit la progression de la réaction. Noté ξ' (lettre grecque « *xi* ») l'avancement est égal à la différence entre n_i, le nombre de moles du constituant i à l'avancement considéré et le nombre initial de moles $n_{i,0}$ du même constituant (au temps zéro de la réaction), divisée par le coefficient stœchiométrique ν_i.

Le coefficient stœchiométrique est compté négativement si le constituant est un réactif (les réactifs disparaissent au cours de la réaction) et positivement si le constituant est un produit (les produits apparaissent au cours de la réaction) ; l'avancement possède la dimension d'une quantité de matière, en l'occurrence, la mole :

$$\xi' = \frac{n_i - n_{i,0}}{\nu_i} \qquad (2)$$

Soit, sous la forme différentielle :

$$d\xi' = \frac{dn_i}{\nu_i} \qquad \text{ou bien} \qquad dn_i = \nu_i \, d\xi' \qquad (3)$$

4. ENTHALPIE LIBRE DE RÉACTION

Au cours d'une transformation infinitésimale, la variation d'enthalpie libre à température, pression et pH constants est donnée par :

$$dG' = \sum_i \mu_i' dn_i \tag{4}$$

Si l'on remplace les dn_i par leurs valeurs en fonction de $d\xi'$:

$$dG' = \left(\sum_i \nu_i \mu_i'\right) d\xi' \tag{5}$$

Ce qui revient à écrire :

$$\left(\frac{\partial G'}{\partial \xi'}\right)_{T,P,pH} = \sum_i \nu_i \mu_i' = \Delta_\text{r} G' \tag{6}$$

$\Delta_\text{r}G'$ est l'enthalpie libre de réaction, identifiée à la dérivée de G' par rapport à la variable d'avancement. On peut calculer $\Delta_\text{r}G'$ dès que l'on connait les valeurs des potentiels chimiques et les coefficients stœchiométriques des réactifs et des produits. Dans le cas de l'équation 1 :

$$\Delta_\text{r} G' = \; -\nu_A \mu_A' - \nu_B \mu_B' + \nu_C \mu_C' + \nu_D \mu_D' \tag{7}$$

5. GRANDEURS DE RÉACTION

Les grandeurs de réaction ($\Delta_\text{r}Z'$), telles l'enthalpie libre de réaction ($\Delta_\text{r}G'$), l'enthalpie de réaction ($\Delta_\text{r}H'$) ou l'entropie de réaction ($\Delta_\text{r}S'$) sont les dérivées des fonctions d'état correspondantes (G', H', S') par rapport à la variable d'avancement :

$$\Delta_\text{r} Z' = \left(\frac{\partial Z'}{\partial \xi'}\right)_{T,P,pH} \tag{8}$$

L'enthalpie H' et l'enthalpie libre G' s'expriment en Joules ; comme l'avancement ξ' s'exprime en moles, l'enthalpie de réaction ($\Delta_\text{r}H'$) et l'enthalpie libre de réaction ($\Delta_\text{r}G'$) s'expriment en Joule·mole^{-1}, le plus souvent en kiloJoule·mole^{-1} (kJ·mol^{-1}). L'entropie S' s'exprime en Joule·Kelvin^{-1}, donc l'entropie de réaction ($\Delta_\text{r}S'$) s'exprime en Joule·Kelvin^{-1}·mole^{-1} (J·K^{-1}·mol^{-1}).

La convention d'écriture utilisant la lettre majuscule Δ pourrait suggérer que les grandeurs de réaction désignent une variation de fonction d'état associée à une variation macroscopique de composition du système. Mais en fait il s'agit bien de **dérivée**, c'est-à-dire de variation infinitésimale de fonction d'état (G', H', S') associée à une variation infinitésimale de la variable d'avancement (ξ').

24 Enthalpies libres standard de formation et de réaction

Mots clés
Enthalpies libres standard, formation, réaction

1. EN BREF

Si les réactifs et les produits se trouvent à l'état standard, la réaction est décrite par les **grandeurs standard de réaction**. L'**enthalpie libre standard de réaction** $\Delta_r G'^o$ peut être calculée à partir des **enthalpies libres standard de formation** $\Delta_f G'^o$ de chacun des constituants en appliquant les **lois de Hess**.

2. ENTHALPIE LIBRE STANDARD DE FORMATION $\Delta_f G'^o$

L'**enthalpie libre standard de formation** $\Delta_f G'^o$ est définie comme la variation d'enthalpie libre qui accompagne la formation d'un composé à partir des éléments dont il est constitué, lorsque ces éléments (réactifs) et le composé (le produit) se trouvent à l'état standard. Par exemple, l'enthalpie libre standard de formation de l'adénosine triphosphate à partir du carbone, de l'hydrogène, de l'oxygène et du phosphore :

P = 1 bar, T = 298,15 K
Éléments à l'état standard :
Oxygène : O_2, gaz
Hydrogène : H_2, gaz
Azote : N_2, gaz
Carbone : C solide (graphite)
Phosphore : P solide (P blanc)

$\Delta_f G'^o = -2\ 292{,}50\ \text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ →

P = 1 bar, T = 298,15 K, pH 7
Adénosine triphosphate
Soluté à l'état standard :
Activité = 1
(Solution idéale 1 mol.L^{-1})

Il s'agit bien sûr d'une expérience de pensée, construite à partir de résultats expérimentaux. Le tableau ci-contre regroupe les enthalpies libres standard de formation de quelques molécules biologiques. L'enthalpie libre standard de formation $\Delta_f G'^o$ est identifiée au potentiel chimique standard $\mu_i'^o$; on remarquera que l'enthalpie libre standard de formation est considérée comme nulle pour tous les éléments.

3. ENTHALPIE LIBRE STANDARD DE RÉACTION $\Delta_r G'^o$

Si l'on connait les enthalpies libres standard de formation des réactifs et des produits d'une réaction, on peut calculer $\Delta_r G'^o$, l'**enthalpie libre standard de réaction** en appliquant les lois de Hess : l'enthalpie libre standard de réaction est égale à la somme des enthalpies libres standard de formation des réactifs et des produits multipliées par leurs coefficients stœchiométriques respectifs, comptés négativement pour les réactifs, et positivement pour les produits :

$$\Delta_r G'^o = \sum_i \nu_i \Delta_f G'^o \quad (1)$$

On peut ainsi utiliser les valeurs de $\Delta_f G'^{\circ}$ du tableau suivant[1] pour calculer par exemple l'enthalpie libre standard d'hydrolyse de l'adénosine triphosphate (ATP) en adénosine diphosphate (ADP) et phosphate inorganique (Pi) :

$$\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{ADP} + \text{Pi} \qquad (2)$$

$\Delta_r G'^{\circ} = -(\Delta_f G'^{\circ}_{ATP} + \Delta_f G'^{\circ}_{H_2O}) + (\Delta_f G'^{\circ}_{ADP} + \Delta_f G'^{\circ}_{Pi})$

$\Delta_r G'^{\circ} = -(-2\,292{,}50 - 155{,}66) + (-1\,424{,}70 - 1\,059{,}49) = -36{,}03\ \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$

Composé	$\Delta_f G'^{\circ} \equiv \mu'^{\circ}$ kJ · mol^{-1}	Composé	$\Delta_f G'^{\circ} \equiv \mu'^{\circ}$ kJ · mol^{-1}
Adénosine diphosphate (ADP)	– 1 424,70	Fructose	– 426,32
Adénosine monophosphate (AMP)	– 554,83	Fructose–6-phosphate (F6P)	– 1 315,74
Adénosine triphosphate (ATP)	– 2 292,50	Fructose-1,6-bisphosphate (F1,6BP)	– 2 206,78
Aspartate	– 452,09	Glucose	– 426,71
Diazote (gaz)	0	Glucose-1-phosphate (G1P)	– 1 311,89
Diazote (solution dans l'eau)	18,70	Glucose-6-phosphate (G6P)	– 1 318,92
1,3 bisphosphoglycérate (1,3 BPG)	– 2 207,30	Glycéraldéhyde-3-phosphate (GAP)	– 1 088,04
Carbone ($C_{graphite}$)	0	Glycine	– 176,08
Cystéine	– 53,65	Lactate	– 313,70
Dihydroxyacétone phosphate (DAP)	– 1 095,70	Nicotinamide adénine dinucléotide (NAD^+)	1 059,11
Dioxygène (gaz)	0	Nicotinamide adénine dinucléotide réduit (NADH)	1 120,09
Dioxygène (solution dans l'eau)	16,40	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate ($NADP^+$)	176,68
Dioxyde de carbone (CO_2 gaz)	– 394,36	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit (NADPH)	237,77
Dioxyde de carbone (CO_2 solution dans l'eau)	– 547,10	Phosphoénolpyruvate (PEP)	– 1 189,73
Éthanol	62,96	Phosphate	– 1 059,49
Eau (H_2O)	– 155,66	Pyruvate	– 350,78

1. Les valeurs des enthalpies libres standard de formation sont extraites de : Robert A. Alberty, Thermodynamics of biochemical reactions, J. Wiley & Sons, Inc., Hokoben, New Jersey, USA, 2003.

25 Critères d'évolution d'une réaction

Mots clés

Enthalpie libre de réaction, constante d'équilibre, quotient de réaction

1. EN BREF

Dans le but de prévoir la direction de l'évolution spontanée d'une réaction, on établit les relations entre l'**enthalpie libre de réaction** $\Delta_r G'$, l'**enthalpie libre standard de réaction** $\Delta_r G'^\circ$, la **constante d'équilibre** $K'_{éq}$ et le **quotient de réaction** Q'.

2. ENTHALPIE LIBRE DE RÉACTION

L'enthalpie libre de réaction de la réaction générale

$$\nu_A A + \nu_B B \rightleftharpoons \nu_C C + \nu_D D \quad (1)$$

est exprimée en fonction des potentiels chimiques des réactifs et des produits :

$$\Delta_r G' = -\nu_A \mu'_A - \nu_B \mu'_B + \nu_C \mu'_C + \nu_D \mu'_D \quad (2)$$

En introduisant l'expression de chaque potentiel chimique (Fiche 22) dans la relation 2, on obtient :

$$\Delta_r G' = -\nu_A(\mu'^o_A + RT\,\text{Log}[A]) - \nu_B(\mu'^o_B + RT\,\text{Log}[B]) + \nu_C(\mu'^o_C + RT\,\text{Log}[C]) + \nu_D(\mu'^o_D + RT\,\text{Log}[D]) \quad (3)$$

Ou bien :

$$\Delta_r G' = (-\nu_A \mu'^o_A - \nu_B \mu'^o_B + \nu_C \mu'^o_C + \nu_D \mu'^o_D) + RT Log\left(\frac{[C]^{\nu_C}\ [D]^{\nu_D}}{[A]^{\nu_A}\ [B]^{\nu_B}}\right) \quad (4)$$

Dans cette expression, le premier terme représente $\Delta_r G'^o$, l'**enthalpie libre standard de réaction**, lorsque chacun des produits et chacun des réactifs est à l'état standard (on identifie les μ'^o aux $\Delta_f G'^o$, cf. Fiche 24) :

$$\Delta_r G'^o = (\nu_C \mu'^o_C + \nu_D \mu'^o_D) - (\nu_A \mu'^o_A + \nu_B \mu'^o_B) \quad (5)$$

Alors que ce premier terme est constant, la valeur du second est fonction de la concentration des constituants du système.

$$\Delta_r G' = \Delta_r G'^o + RT\ Log\left(\frac{[C]^{\nu_C}[D]^{\nu_D}}{[A]^{\nu_A}[B]^{\nu_B}}\right) \quad (6)$$

3. CONSTANTE D'ÉQUILIBRE

On considère que le milieu réactionnel est un système fermé ; il évolue spontanément de sorte que son enthalpie libre diminue jusqu'à un minimum – un état d'équilibre pour lequel l'enthalpie libre de réaction est nulle :

$$\left(\frac{\partial G'}{\partial \xi'}\right)_{T,P,pH} = 0 = \Delta_r G'_{éq} \quad (7)$$

Les concentrations des réactifs $[A]_{éq}$, $[B]_{éq}$ et des produits $[C]_{éq}$, $[D]_{éq}$ correspondent à un équilibre :

$$\Delta_r G'_{éq} = 0 = (-\nu_A \mu'^o_A - \nu_B \mu'^o_B + \nu_C \mu'^o_C + \nu_D \mu'^o_D) + RTLog\left(\frac{[C]^{\nu_C}_{éq}\,[D]^{\nu_D}_{éq}}{[A]^{\nu_A}_{éq}\,[B]^{\nu_B}_{éq}}\right) \quad (8)$$

ou bien :

$$0 = \Delta_r G'^o + RT\ Log\left(\frac{[C]^{\nu_C}_{éq}\,[D]^{\nu_D}_{éq}}{[A]^{\nu_A}_{éq}\,[B]^{\nu_B}_{éq}}\right) \quad (9)$$

ce qui permet d'écrire :

$$\Delta_r G'^o = -RT\ LogK'_{éq} \quad \text{ou} \quad K'_{éq} = e^{-\frac{\Delta_r G'^o}{RT}} \quad (10)$$

où $K'_{éq}$ est la constante d'équilibre de la réaction :

$$K'_{éq} = \frac{[C]^{\nu_C}_{éq}\,[D]^{\nu_D}_{éq}}{[A]^{\nu_A}_{éq}\,[B]^{\nu_B}_{éq}} \quad (11)$$

4. QUOTIENT DE RÉACTION, CRITÈRES D'ÉVOLUTION

Connaissant $\Delta_r G'^o$, on peut ensuite calculer $\Delta_r G'$ pour toute combinaison des concentrations des réactifs et des produits, et prévoir ainsi l'évolution de la réaction. On définit le **quotient de réaction**, $\boldsymbol{Q'}$:

$$Q' = \frac{[C]^{\nu_C}\ [D]^{\nu_D}}{[A]^{\nu_A}\ [B]^{\nu_B}} \quad (12)$$

D'où l'écriture simplifiée de l'enthalpie libre réactionnelle :

$$\Delta_r G' = -RT\ Log\ K'_{éq} + RT\ Log\ Q' \quad (13)$$

Si $Q' = K'_{éq}$, $\Delta_r G' = 0$, la réaction se trouve dans un état d'équilibre, et on n'assiste à aucune évolution de la composition du système au niveau macroscopique.

Si $Q' < K'_{éq}$, $\Delta_r G' < 0$, la réaction est **spontanée** (**exergonique**) ; elle évolue vers la formation des produits (sens direct $\nu_A A + \nu_B B \longrightarrow \nu_C C + \nu_D D$).

Si $Q' > K'_{éq}$, $\Delta_r G' > 0$, la réaction écrite dans le sens direct est **non spontanée** (**endergonique**) et se déroulera dans le sens inverse : $\nu_A A + \nu_B B \leftarrow \nu_C C + \nu_D D$; elle pourra se dérouler dans le sens direct à condition d'être couplée avec une seconde réaction, pour autant que la somme des deux enthalpies libres de réaction soit de signe négatif (Fiches 28, 33).

26 Oxydo-réduction

Mots clés

Oxydants, réducteurs, équation de Nernst, potentiels redox

1. EN BREF

Un grand nombre de réactions biochimiques font intervenir un transfert d'électrons entre un réducteur et un oxydant. Ces réactions sont catalysées par des oxydo-réductases, des enzymes qui utilisent le plus souvent des coenzymes d'oxydo-réduction pour transformer les substrats.

2. POTENTIELS D'OXYDO-RÉDUCTION

Une molécule susceptible de participer à une réaction d'oxydo-réduction peut exister sous la forme oxydée (Ox) ou sous la forme réduite (Red). L'équilibre entre les deux formes définit ce que l'on appelle une demi-équation redox :

$$A_{Ox} + ne^- \rightleftharpoons A_{Red} \qquad (1)$$

A_{ox} et A_{red} forment un couple d'oxydo-réduction. Comme aucune substance ne peut gagner des électrons sans qu'une autre substance en perde, une réaction d'oxydo-réduction est composée de deux demi-réactions, par exemple :

$$A_{Ox} + ne^- \rightleftharpoons A_{Red} \quad \text{et} \quad B_{Ox} + ne^- \rightleftharpoons B_{Red} \qquad (2)$$

soit, en couplant les deux demi-réactions :

$$A_{Ox} + B_{Red} \rightleftharpoons A_{Red} + B_{Ox} \qquad (3)$$

Cette réaction évolue dans le sens direct si les électrons ont tendance à passer de B_{Red} sur A_{Ox} ; elle évolue dans le sens inverse si les électrons ont tendance à passer de A_{Red} sur B_{Ox}.

Dans le but de prévoir l'évolution des réactions d'oxydo–réduction, on détermine les potentiels d'oxydo–réduction de chaque couple Ox/Red. Cette mesure consiste à évaluer la force électro motrice (en Volt) qui prend naissance entre deux cellules, l'une contenant le couple Ox/Red et l'autre une référence. Les potentiels mesurés E′ vérifient la relation suivante, l'équation de Nernst :

$$E' = E'^{\circ} + \frac{RT}{nF}\, Log \frac{a_{Ox}}{a_{Red}} \qquad (4)$$

Dans cette équation,

- E' est le potentiel (Volt) du couple Ox/Red dans les conditions expérimentales,
- E'° est le potentiel de ce couple dans les conditions standard (potentiel standard),
- R est la constante des gaz parfaits (8,31 $J \cdot K^{-1} \cdot mol^{-1}$),
- T est la température absolue (K),
- n est le nombre d'électrons échangés,

- F, le Faraday, est la charge électrique associée à une mole d'électrons, (96 500 Coulomb · mole^{-1}),
- a_{Ox} et a_{Red} sont les activités respectives des formes oxydée et réduite du couple considéré.

Dans les conditions standard :
- l'activité des formes oxydée et réduite est égale à 1 (solution idéale à 1 mol · L^{-1})
- la pression est égale à 1 bar,
- le pH est égal à 7 (conditions particulière aux réactions biochimiques).

L'équation de Nernst est habituellement écrite sous une forme plus pratique, dans laquelle apparaît le logarithme décimal et où l'on fait intervenir les concentrations molaires des formes oxydée et réduite, sous-entendu que les solutions sont idéales ; à la température de 298 K, (25 °C) :

$$E' = E'^{\circ} + \frac{0,059}{n} log_{10} \frac{[Ox]}{[Red]} \quad (5)$$

Le tableau de la page suivante rassemble des potentiels standards de couples d'oxydo-réduction importants en biochimie.

3. COUPLAGE DE DEUX DEMI-RÉACTIONS

Lorsque l'on couple deux demi-réactions, il est d'usage d'écrire dans le sens direct (Ox $\rightleftharpoons$ Red) la demi-réaction dont le potentiel redox est le plus élevé, et d'inverser la demi-réaction dont le potentiel redox est le plus faible puis de faire la somme des deux demi-réactions. Par exemple, la réduction de l'acétaldéhyde par le NADH :

$$\text{Acétaldéhyde} + 2\,H^+ + 2\,e^- \rightleftharpoons \text{Éthanol}$$

$$\text{NADH} \rightleftharpoons NAD^+ + H^+ + 2\,e^-$$

$$\text{Acétaldéhyde} + \text{NADH} + H^+ \rightleftharpoons \text{Éthanol} + NAD^+ \quad (6)$$

La réaction (6) est caractérisée par une différence de potentiel standard, $\Delta E'^{\circ}$ calculée à partir des potentiels standard des deux demi-réactions :

$$\Delta E'^{\circ} = \{E'^{\circ} \text{ le plus élevé (celui de l'oxydant)}\} - \{E'^{\circ} \text{ le plus faible (celui du réducteur)}\}$$

En observant cette règle, on obtient toujours des valeurs positives de $\Delta E'^{\circ}$. Dans le cas présent, $\Delta E'^{\circ} = -0,197 - (-0,315) : +0,118$ V.

Le nombre d'électrons échangés est pris en compte pour calculer l'enthalpie libre standard de réaction à partir de la relation :

$$\Delta_r G'^{\circ} = -nF\,\Delta E'^{\circ} \quad (7)$$

Soit, pour la réduction de l'acétaldéhyde par le NADH :

$$\Delta_r G'^{\circ} = -2 \times 96\,500 \times \{-0,197 - (-0,315)\} = -22,8 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

Ce résultat montre que la réaction (6) est exergonique, et donc que le NADH est capable de réduire l'acétaldéhyde. Pour réduire l'acétaldéhyde, il faut que le potentiel redox du réducteur soit inférieur à – 0,197 V. En principe, si l'on réduit l'acétaldéhyde au moyen du dihydrogène, l'enthalpie libre standard de réaction devrait être égale à – 43,04 $kJ \cdot mol^{-1}$.

En d'autres termes, le pouvoir réducteur augmente à mesure que l'on descend dans l'échelle des potentiels redox. À l'inverse, plus on monte dans l'échelle des potentiels redox, plus on trouve des molécules possédant un pouvoir oxydant élevé.

Demi-réaction	E'° (Volt)
$O_2 + 4\,H^+ + 4\,e^- \longrightarrow 2\,H_2O$	0,815
Cytochrome a_3 (Fe^{3+}) + e^- ⟶ Cytochrome a_3 (Fe^{2+})	0.385
$O_2 + 2\,H^+ + 2\,e^- \longrightarrow H_2O_2$	0,300
Cytochrome a (Fe^{3+}) + e^- ⟶ Cytochrome a (Fe^{2+})	0,290
Cytochrome c (Fe^{3+}) + e^- ⟶ Cytochrome c (Fe^{2+})	0,235
Cytochrome c_1 (Fe^{3+}) + e^- ⟶ Cytochrome c_1 (Fe^{2+})	0,220
Ubiquinone + $2H^+$ + 2 e^- ⟶ Ubiquinol	0,100
Cytochrome b (Fe^{3+}) + e^- ⟶ Cytochrome b (Fe^{2+})	0,077
Acide déhydroascorbique + $2H^+$ + 2 e^- ⟶ Acide ascorbique	0,058
Fumarate + $2H^+$ + 2 e^- ⟶ Succinate	0,031
Oxaloacétate + $2H^+$ + 2 e^- ⟶ Malate	– 0,175
FAD + $2H^+$ + 2 e^- ⟶ $FADH_2$	– 0,180[1]
Pyruvate + $2H^+$ + $2e^-$ ⟶ Lactate	– 0,190
Acétaldéhyde + $2H^+$ + 2 e^- ⟶ Ethanol	– 0,197
Cystine + $2H^+$ + 2 e^- ⟶ 2 Cystéine	– 0,220
Glutathion oxydé (GSSG) + $2H^+$ + 2 e^- ⟶ 2 Glutathions réduits (2 GSH)	– 0,230
1,3–bis-Phosphoglycérate + $2H^+$ + 2 e^- ⟶ Glycéraldéhyde-3-phosphate + Pi	– 0,290
NAD^+ + H^+ + $2e^-$ ⟶ NADH	– 0,315
$NADP^+$ + H^+ + $2e^-$ ⟶ NADPH	– 0.320
$2H^+ + 2e^- \longrightarrow H_2$	– 0,420
Ferrédoxine (Fe^{3+}) ⟶ Ferrédoxine (Fe^{2+})	– 0,430
Acétate + $3H^+$ + $2e^-$ ⟶ Acétaldéhyde + H_2O	– 0.581

1. Il s'agit du coenzyme libre ; le potentiel standard du coenzyme lié est différent pour chaque enzyme flavinique.

4. CONSTANTES D'ÉQUILIBRE

Les potentiels redox mentionnés dans le tableau précédent sont compris entre + 0,816 et – 0,581 V. Si cet intervalle d'environ 1,4 Volt peut sembler modeste, il faut réaliser que l'éventail des différences de potentiel $\Delta E'^{\circ}$ rend compte de réactions dont les constantes d'équilibres se répartissent sur une échelle très étendue.

Exemple : réduction du dioxygène par le dihydrogène

$$O_2 + 4e^- + 4H^+ \rightleftharpoons 2\,H_2O$$

$$2\,H_2 \rightleftharpoons 4H^+ + 4e^-$$

$$O_2 + 2\,H_2 \rightleftharpoons 2\,H_2O$$

$$\Delta E'^{\circ} = +0{,}816 - (-0{,}42) = +1{,}236\ \text{V}$$

La formation d'une molécule d'eau nécessite l'échange de deux électrons entre une molécule de dihydrogène et une demi-molécule de dioxygène, donc l'enthalpie libre standard de réaction est égale à :

$$\Delta_r G'^{\circ} = -2 \times 96\,500 \times 1{,}236 = -238{,}6\ \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$$

Ce qui correspond à la constante d'équilibre :

$$K'_{\text{éq}} = \exp\left(-\Delta_r G'^{\circ}/RT\right) = \exp\left(238\,600/(8{,}31 \times 298)\right) = 6{,}99\ 10^{41}$$

On peut retenir pour règle que chaque augmentation de $\Delta E'^{\circ}$ de 0,1 Volt se traduit par une diminution de $\Delta_r G'^{\circ}$ de 19,3 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (pour un échange de 2 électrons) et une multiplication de la constante d'équilibre $K'_{\text{éq}}$ par un facteur 2,45 10^3.

27 Signification de $\Delta_r G'$

Mots clés

Enthalpie libre de réaction, avancement, dérivée, équilibre, F6P, G6P

1. OBJECTIF

Présenter sur un graphe $\Delta_r G'$, dérivée de G' par rapport à l'avancement (ξ'). On prend comme exemple la réaction d'isomérisation du fructose-6-phosphate en glucose-6-phosphate.

2. LE SYSTÈME

On considère une solution de fructose-6-phosphate 10^{-3} mol·L^{-1} à pH 7. La réaction d'isomérisation est catalysée par la glucose-6-phosphate isomérase :

$$F6P \rightleftharpoons G6P$$

3. $\Delta_r G'^o$, $K'_{éq}$

À 298 K, $\mu'^o_{F6P} = -1\,315{,}74$ kJ·mol^{-1}, $\mu'^o_{G6P} = -1\,318{,}92$ kJ·mol^{-1} (Fiche 24) donc :

$$\Delta_r G'^o = \sum_i \nu_i \mu_i'^o = \mu'^o_{G6P} - \mu'^o_{F6P} = -1\,318{,}92 + 1\,315{,}74 = -3{,}18 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

d'où la valeur de la constante d'équilibre :

$$K'_{éq} = exp\left(\frac{-\Delta_r G'^o}{RT}\right) = 3{,}61$$

4. G', $\Delta_r G'$

L'enthalpie libre du système est égale à la somme des enthalpies libres partielles des constituants, somme des produits $n_i\mu'_i$ (théorème d'**Euler**) :

$$G' = \sum_i n_i \mu_i' = n_{F6P}\mu'_{F6P} + n_{G6P}\mu'_{G6P}$$

$$G' = n_{F6P}(\mu'^o_{F6P} + RT\ Log[F6P]) + n_{G6P}(\mu'^o_{G6P} + RT\ Log[G6P])$$

Pour simplifier l'écriture, on suppose que le volume de la solution est égal à un litre ; au temps zéro, n_{F6P} est donc égal à 10^{-3} mol. On construit le tableau de l'évolution de n_{F6P} et n_{G6P} en fonction de l'avancement ξ'; on en déduit G' :

	n_{F6P} mol	n_{G6P} mol
Au temps zéro	10^{-3}	0
En cours d'évolution	$10^{-3} - \xi'$	ξ'
À l'équilibre	$10^{-3} - \xi'_{éq}$	$\xi'_{éq}$

$$G' = (10^{-3} - \xi')\left\{\mu'^o_{F6P} + RTLog\left(\frac{10^{-3} - \xi'}{1}\right)\right\} + \xi'\left\{\mu'^o_{G6P} + RTLog\left(\frac{\xi'}{1}\right)\right\}$$

et l'enthalpie libre de réaction, $\Delta_r G'$, dérivée de G' par rapport à ξ' :

$$\Delta_r G' = \left(\frac{\partial G'}{\partial \xi'}\right)_{T,P,pH} = \mu'^o_{G6P} - \mu'^o_{F6P} + RTLog\left(\frac{\xi'}{10^{-3} - \xi'}\right)$$

$$\Delta_r G' = \Delta_r G'^o + RTLog\left(\frac{\xi'}{10^{-3} - \xi'}\right) = -RTLog\ K'_{éq} + RTLog\left(\frac{\xi'}{10^{-3} - \xi'}\right)$$

Remarque : $\frac{\xi'}{10^{-3} - \xi'} = Q'$, quotient de réaction.

5. SIGNE DE $\Delta_r G'$ ET VARIATION DE G' EN FONCTION DE L'AVANCEMENT

Lorsque le système est à l'équilibre, $\Delta_r G' = 0$, donc :

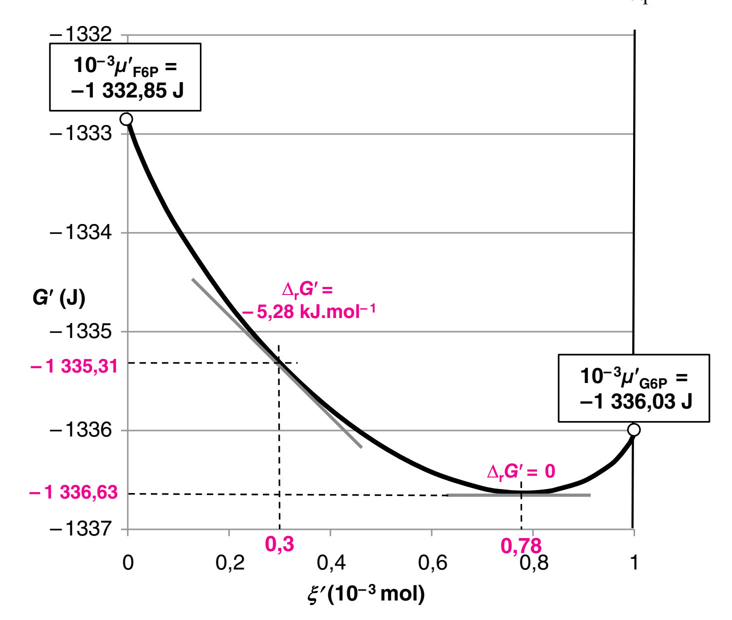
$$\frac{\xi'_{éq}}{10^{-3} - \xi'_{éq}} = K'_{éq} = 3{,}61 \ ; \ \text{d'où} \ \ \xi'_{éq} = 0{,}78\ 10^{-3}\text{mol}$$

On construit le tableau montrant le signe de $\Delta_r G'$ et la variation de G' en fonction de l'avancement et du quotient de réaction :

ξ' (mol)	0	↗	$\xi'_{éq} = 0{,}78\ 10^{-3}$	↗	10^{-3}
$\frac{\xi'}{10^{-3} - \xi'} = Q'$	0	< 3,61	3,61	> 3,61	+ ∞
$\Delta_r G'$ (kJ·mol^{-1})	– ∞	–	0	+	+ ∞
G' (J)	$10^{-3}\mu'_{F6P}$	↘	$G'_{éq}$	↗	$10^{-3}\mu'_{G6P}$

La courbe $G' = f(\xi')$ présente un minimum pour $\xi' = \xi'_{éq}$ (0,78 10^{-3} mol). Pour toute valeur de l'avancement différente de $\xi'_{éq}$, le système évolue : dans le sens direct si $\xi' < \xi'_{éq}$ et dans le sens inverse si $\xi' > \xi'_{éq}$.

L'enthalpie libre de réaction, $\Delta_r G'$ est la dérivée de G' par rapport à ξ' ; c'est un potentiel qui varie en fonction de ξ' et qui s'annule à l'équilibre (pour $\xi' = \xi'_{éq}$).



28 Réactions réversibles, réactions irréversibles

Mots clés

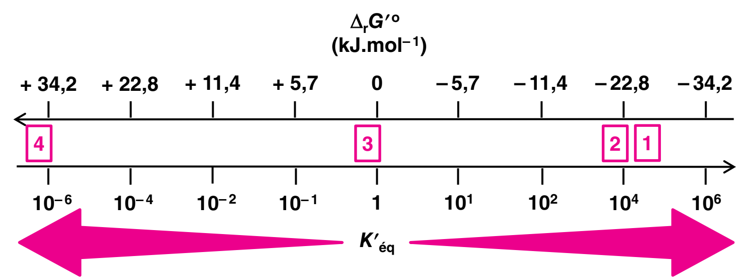
Constante d'équilibre, quotient de réaction, systèmes fermés, systèmes ouverts

1. EN BREF

In vivo, l'évolution spontanée d'une réaction peut se révéler différente de ce que laisse prévoir $\Delta_r G'^{\circ}$, l'enthalpie libre standard de réaction. Quatre réactions biochimiques typiques sont prises en exemple pour illustrer des situations fréquemment rencontrées dans les réactions métaboliques.

2. DIVERSITÉ DES ENTHALPIES LIBRES STANDARD DE RÉACTION

Pour leur grande majorité, les réactions biochimiques sont caractérisées par des enthalpies libres standard de réaction comprises entre ~ +40 et ~ –40 kJ · mol^{-1} ; ces deux valeurs correspondent à des équilibres très fortement déplacés en faveur, respectivement, des substrats ou des produits ; entre ces deux extrêmes, on trouve un éventail complet de réactions, et en particulier des réactions « équilibrées », pour lesquelles $\sim 10^{-1} < K'_{éq} < \sim 10$:



3. QUATRE RÉACTIONS MÉTABOLIQUES TYPE

Nous avons choisi trois réactions métaboliques types pour montrer comment Q', le quotient de réaction intervient pour moduler leur évolution spontanée et une quatrième réaction pour montrer comment un couplage énergétique favorable peut inverser le sens d'évolution. Les chiffres 1 à 4 sont disposés dans la figure ci-dessus au niveau des $\Delta_r G'^{\circ}$ et $K'_{éq}$ respectifs de ces quatre réactions.

- **Réaction 1**

Phosphorylation du glucose, réaction catalysée par une hexokinase :

$$\text{Glucose} + \text{ATP} \rightleftharpoons \text{Glucose-6-phosphate} + \text{ADP}$$

$$\Delta_r G'^{o} = -24{,}41 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

$$K'_{éq} = 1{,}91\ 10^{4}$$

Cette réaction est commune à toutes les cellules utilisant le glucose, c'est la première réaction de la glycolyse. Le caractère exergonique est amplifié par la valeur du quotient de réaction ; si l'on prend, par exemple, des concentrations ($mol \cdot L^{-1}$) mesurées dans un muscle strié au repos :

$$Q' = \frac{[G6P][ADP]}{[Glucose][ATP]} = \frac{(1{,}2\ 10^{-4})(9{,}1\ 10^{-5})}{(8{,}1\ 10^{-4})(2{,}3\ 10^{-2})} = 5{,}86\ 10^{-4}$$

d'où :

$$\Delta_r G' = -\ 24{,}41 \cdot 10^3 + RT\ Log\ (5{,}86 \cdot 10^{-4}) = -42{,}84\ \text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

Il s'agit donc d'une réaction irréversible ; elle évolue invariablement dans le sens direct Glucose + ATP ⟶ Glucose-6-phosphate + ADP. Pour qu'elle évolue dans le sens inverse, il faut que Q' devienne supérieur à $K'_{éq}$, ce qui revient à multiplier Q' par le facteur :

$$\frac{K'_{éq}}{Q'} = \frac{1{,}91\ 10^4}{5{,}86\ 10^{-4}} = 3{,}26\ 10^7$$

ce que l'on peut difficilement envisager, principalement en raison des concentrations relatives de l'ATP et de l'ADP ; dans le muscle strié le rapport [ATP]/[ADP] est maintenu à des valeurs comprises entre 100 et 300.

- **Réaction 2**

Réduction du pyruvate par le NADH, réaction catalysée par la lactate déshydrogénase.

$$\text{Pyruvate} + \text{NADH} \rightleftharpoons \text{Lactate} + \text{NAD}^+$$

$$\Delta_r G'^o = -23{,}30\ \text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

$$K'_{éq} = 1{,}22\ 10^4$$

Si les deux substrats et les deux produits se trouvent à l'état standard, cette réaction est exergonique, l'équilibre se trouve fortement déplacé vers la formation des produits, lactate et NAD^+.

Toutefois, la valeur du quotient de réaction peut gouverner l'évolution de la réaction, soit dans le sens direct, soit dans le sens inverse. Si l'on retient par exemple les concentrations (en $mol \cdot L^{-1}$) de pyruvate, lactate, NAD^+ et NADH trouvées dans le globule rouge :

$$Q' = \frac{[\text{Lactate}][\text{NAD}^+]}{[\text{Pyruvate}][\text{NADH}]} = \frac{(1.4\ 10^{-3})(1.1\ 10^{-4})}{(6\ 10^{-5})(3.1\ 10^{-7})} = 8{,}27\ 10^3$$

$$\Delta_r G' = -23{,}30 \cdot 10^3 + RT\ Log\ (8{,}27 \cdot 10^3) = -0{,}96\ \text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

Dans ce calcul, la valeur élevée de Q' contrebalance pratiquement $K'_{éq}$. D'une manière générale, on trouve dans les cellules une concentration de NAD^+ bien plus élevée que celle du NADH (rapport de l'ordre de 100 : 1) ; la valeur de Q', et donc le signe de $\Delta_r G'$, dépendra surtout du rapport [Lactate]/[Pyruvate] :

- La formation du lactate à partir du pyruvate est la dernière réaction de la glycolyse anaérobie. Dans le muscle strié, et plus particulièrement au cours d'un exercice physique, on assiste à la production de lactate : rapport [Lactate]/[Pyruvate] relativement faible, $Q' < K'_{éq}$; $\Delta_r G' < 0$.

- La formation du pyruvate à partir de lactate est la première réaction de la néoglucogenèse. Dans le foie, par exemple au cours de la récupération après un exercice physique, on assiste à la formation de pyruvate : rapport [Lactate]/[Pyruvate] élevé, $Q' > K'_{éq}$; $\Delta_r G' > 0$.

• **Réaction 3**

Transfert de groupement aminé entre le glutamate et l'oxaloacétate, catalysé par la glutamate oxaloacétate transaminase (GOT) :

$$\text{Glutamate} + \text{Oxaloacétate} \rightleftharpoons \alpha\text{-Cétoglutarate} + \text{Aspartate}$$

$$\Delta_r G'^o = +1,47 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

$$K'_{éq} = 0,55$$

En toute rigueur cette réaction est endergonique, et se déroule dans le sens inverse lorsque les substrats et les produits se trouvent à l'état standard. Toutefois, la constante d'équilibre est suffisamment faible pour que l'évolution spontanée de cette réaction se fasse dans le sens direct si le quotient de réaction devient inférieur à 0,55.

Cette réaction, de même que toutes les réactions de transamination entre un α-céto-acide et un amino-acide, évolue aussi bien dans le sens direct que dans le sens inverse, au gré des concentrations variables des substrats et des produits. Il s'agit donc d'une réaction réversible, *in vitro* et *in vivo*.

• **Réaction 4**

Formation de l'ATP :

$$\text{ADP} + \text{Pi} \rightleftharpoons \text{ATP} + H_2O$$

$$\Delta_r G'^o = +\,36,03 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

$$K'_{éq} = 4,8\ 10^{-7}$$

C'est une réaction endergonique, dont l'équilibre est fortement déplacé vers la formation des substrats, ADP et phosphate. Cette réaction ne se produit dans le sens direct que lorsqu'elle est associée à une réaction qui libère suffisamment d'énergie pour que la somme des deux réactions soit caractérisée par une valeur négative de $\Delta_r G'^o$:

- Au niveau de la glycolyse, la formation d'ATP est assurée aux dépens du 1,3-bis-phosphoglycérate et du phosphoénolpyruvate dont les enthalpies libres standard d'hydrolyse sont respectivement égales à – 44,26 et – 64,88 kJ · mol^{-1} (Fiche 33). Les deux réactions, catalysées par la 3-phosphoglycérate kinase et la pyruvate kinase, sont effectivement exergoniques, avec des $\Delta_r G'^o$ respectifs de – 8,23 et –28,85 kJ · mol^{-1}.
- L'ATP est également formé au cours de la dernière étape des oxydations phosphorylantes par l'ATP synthase F_1F_0, complexe membranaire qui utilise l'énergie de la force proton-motrice établie au niveau de la membrane interne des mitochondries (~ – 50 kJ · mol^{-1}) (Fiche 82).

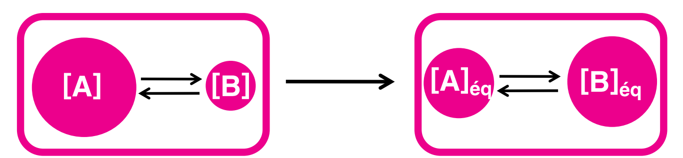
4. LES ORGANISMES VIVANTS SONT DES SYSTÈMES OUVERTS

Les grandeurs de réaction comme $\Delta_r G'$ permettent de prévoir l'évolution des systèmes fermés : ils n'échangent pas de matière avec l'extérieur. Or, les êtres vivants sont au contraire des systèmes ouverts : ils prélèvent les nutriments, les transforment et rejettent

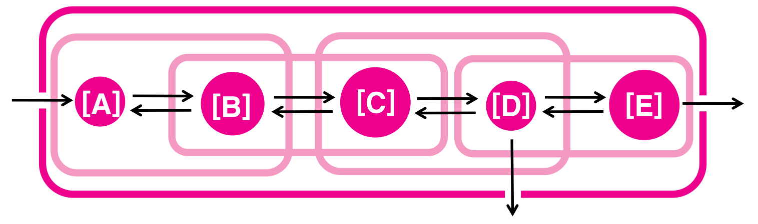
les déchets dans leur environnement. La description de ces systèmes relève plutôt de la **thermodynamique des processus irréversibles**.

L'approche de la **thermodynamique classique** permet toutefois de décrire les systèmes biologiques d'une manière satisfaisante. En effet, les organismes vivants maintiennent leurs constituants à des concentrations stables au cours du temps – c'est le principe de l'**homéostasie**. On remplace les systèmes fermés évoluant spontanément vers l'équilibre par des **systèmes ouverts** en **régime d'état stationnaire** : les compositions sont stables et éloignées de l'équilibre.

Exemple d'évolution spontanée d'un système fermé



Décomposition d'un système ouvert en systèmes fermés virtuels



Dans la voie métabolique A → E, on assimile chacune des réactions individuelles à un système fermé (virtuel) dès lors que l'on considère que les concentrations des substrats et des produits sont stables dans un système ouvert en régime d'état stationnaire.

29 Coenzymes nicotiniques : NAD^+, $NADP^+$

Mots clés

NAD^+, NADH, $NADP^+$, NADPH, coenzymes mobiles

1. OBJECTIF

Connaître les formules du **NAD^+** et du **$NADP^+$** (formes oxydées) du **NADH** et du **NADPH** (formes réduites) ainsi que leurs propriétés générales.

2. CONSTITUTION

Le centre réactif de ces deux coenzymes est le nicotinamide, amide de l'acide nicotinique (vitamine B3 ou PP, Fiche 50). Le NAD^+, ou nicotinamide adénine dinucléotide, est formé de deux nucléotides, le nicotinamide mononucléotide (NMN) et l'adénosine monophosphate (AMP), réunis par une liaison anhydride d'acide phosphorique au niveau des groupes 5'phosphate des deux riboses :

Nicotinamide oxydé

Nicotinamide réduit

Nicotinamide mononucléotide (NMN)

H^-

Adénosine monophosphate (AMP)

Phosphate ($NADP^+$/NADPH)

Le signe + des abréviations NAD^+ et $NADP^+$ des formes oxydées rappelle la présence d'une charge positive portée par le cycle pyridinique du nicotinamide (azote quaternaire en liaison glycosidique avec le ribose du NMN). La molécule de $NADP^+$ possède en outre un groupe phosphate qui estérifie la fonction alcool secondaire en position 2' du ribose

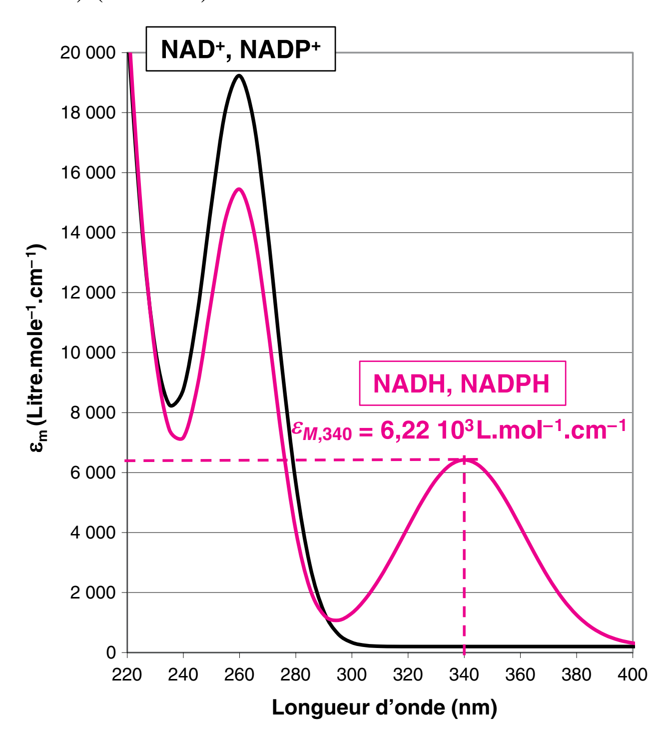
de l'AMP. Les formes réduites, NADH et NADPH, sont produites à partir des formes oxydées à la suite du transfert d'un **ion hydrure** (H^-, c'est-à-dire un proton entouré de deux électrons) sur le cycle nicotinamide, en position 4 (*para*) de l'azote du nicotinamide.

3. PROPRIÉTÉS

Le potentiel redox de ces deux coenzymes est proche du potentiel redox du dihydrogène à pH 7 : $E'° = -0{,}315$ V (NAD^+/NADH), –0.320 V ($NADP^+$/NADPH), –0.42 V (H^+/H_2) (Fiche 26). Les deux coenzymes nicotiniques réduits se présentent comme des substituts « biologiques » de l'hydrogène.

Ces deux coenzymes sont mobiles. Une fois réduits au niveau d'une enzyme, ils s'en détachent et sont réoxydés sur une enzyme catalysant une réaction différente. Par exemple, dans une cellule de muscle dans laquelle se déroule la glycolyse anaérobie, le NAD^+ réduit en NADH au niveau de la glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase pourra être réoxydé au niveau de la lactate déshydrogénase.

Les deux premières réactions de la voie des pentoses phosphate sont les sources principales de NADPH ; ce coenzyme réduit est par la suite utilisé dans les réactions de réduction intervenant dans les synthèses, par exemple la synthèse des acides gras ou la réduction du ribose en désoxyribose au cours de la synthèse des désoxyribonucléotides (précurseurs de l'ADN) (Fiche 75).



Les coenzymes réduits, NADH et NADPH absorbent la lumière dans le proche ultraviolet (340 nm) alors qu'à cette longueur d'onde, l'absorption des formes oxydées est pratiquement nulle (figure ci-dessus). Cette propriété permet de doser par photométrie un nombre important de métabolites à l'aide de déshydrogénases utilisant le NAD^+ /NADH ou le $NADP^+$/NADPH.

30 Coenzymes flaviniques : FMN, FAD

Mots clés

FMN, FAD, $FMNH_2$, $FADH_2$, Flavines semi-quinones

1. OBJECTIF

Connaître les formules et les propriétés générales du **FMN** et du **FAD**, de leurs formes réduites **$FMNH_2$**, **$FADH_2$** et de leurs **formes semi-quinone**.

2. CONSTITUTION DES COENZYMES

Le groupement **7,8-diméthyl-isoalloxazine** constitue le centre réactif des deux coenzymes flaviniques, le **flavine mononucléotide** (FMN) et le **flavine adénine dinucléotide** (FAD). L'azote 10 du noyau isoalloxazine est lié au carbone 1' du ribitol, polyalcool dérivé du D-ribose : isoalloxazine + **ribitol** = **riboflavine** ou vitamine B2. La molécule de FMN résulte de la phosphorylation de la fonction alcool 5' du ribitol de la riboflavine.

La molécule de FAD se compose d'une molécule de FMN et d'une molécule d'adénosine monophosphate (AMP) réunies par les deux groupes phosphate en 5' au moyen d'une liaison anhydride d'acide.

3. RÉDUCTION DES COENZYMES FLAVINIQUES

La réduction complète des deux coenzymes fait intervenir 2 électrons (+ 2 H^+) qui se fixent au niveau des azotes 1 et 5 du noyau isoalloxazine. On obtient les molécules respectives de $FMNH_2$ et de $FADH_2$.

Forme oxydée $\underset{-2\,H^+ - 2\,e^-}{\overset{+2\,H^+ + 2\,e^-}{\rightleftarrows}}$ Forme réduite

Les coenzymes flaviniques peuvent également accepter les électrons un à un comme en témoigne la stabilité des formes **radicalaires à-demi réduites** connues sous le nom de formes « **semi-quinone** » (l'électron célibataire est représenté par le point rouge dans la forme semi-quinone) :

Forme semi-quinone

Forme oxydée $\underset{-H^+ - e^-}{\overset{+H^+ + e^-}{\rightleftarrows}}$ Forme semi-quinone $\underset{-H^+ - e^-}{\overset{+H^+ + e^-}{\rightleftarrows}}$ Forme réduite

On observe le transfert de 2 électrons (+ 2 H^+) par exemple au cours de la formation des doubles liaisons >C=C< (succinate déshydrogénase (FAD), acyl-CoA déshydrogénase (FAD)). On rencontre les formes semi-quinone au niveau de la chaîne respiratoire où les coenzymes flaviniques servent d'intermédiaires entre les transporteurs à deux électrons (NADH) et les transporteurs à un électron (cytochromes) (Fiche 83).

4. AUTRES PROPRIÉTÉS

On désigne par le terme « flavoprotéines » les enzymes qui renferment des coenzymes flaviniques. Ces derniers sont fortement attachés aux protéines (souvent par des liaisons covalentes) et doivent être qualifiés de **groupements prosthétiques**.

Les coenzymes flaviniques ont des potentiels redox plus élevés que ceux des coenzymes nicotiniques (ce sont donc de meilleurs oxydants) mais ils sont variables d'une enzyme à l'autre, particulièrement en raison des ions métalliques complexés par les différentes flavoprotéines (ex : Fe^{III}, Mn^{II}, Mo^{V}, Zn^{II}).

Les coenzymes flaviniques réduits sont « **auto-oxydables** » ; ils se réoxydent spontanément par le transfert de deux électrons (+ 2 H^+) sur une molécule de dioxygène pour donner le peroxyde d'hydrogène H_2O_2.

31 Tétrapyrroles, cytochromes

Mots clés

Tétrapyrroles, cytochromes, hème, fer

1. NOMENCLATURE DES TÉTRAPYRROLES

Les tétrapyrroles sont des hétérocycles azotés constitués de quatre noyaux **pyrrole** (A, B, C, D) réunis par des ponts **méthine**, numérotés 5, 10, 15 et 20 dans les molécules de tétrapyrroles cycliques. Le noyau **porphine** est le plus simple des tétrapyrroles cycliques, plus communément appelés **porphyrines**.

Pyrrole

Porphine

Les porphyrines sont des molécules planes comportant 11 liaisons conjuguées ; de ce fait, elles absorbent fortement la lumière UV-visible (Fiche 14). La perte des deux hydrogènes portés par les atomes d'azote transforme les porphyrines en dianions qui peuvent alors complexer un ion métallique ; par exemple, les complexes fer-porphyrine que l'on appelle **noyaux hème**. Les noyaux hème les plus rencontrés sont les hèmes A, B et C qui constituent, respectivement, les groupements prosthétiques de cytochromes des classes *a*, *b* et *c*.

Hème A

Hème B

Hème C

Les substituants portés par l'hème B sont, dans l'ordre, les groupes méthyle (2), vinyle (3), méthyle (7), vinyle (8), méthyle (12), propionate (13), propionate (17), et méthyle (18). L'hème A se différencie de l'hème B par la présence d'une chaîne terpénique sur le carbone 3 (hydroxyéthyl farnésyle) et d'une fonction aldéhyde formique sur le carbone 18. L'hème C est relié par covalence à la chaîne polypeptidique du cytochrome *c* au moyen des deux liaisons **thioéther** formées par addition de fonctions thiol sur les doubles liaisons des deux groupes vinyle d'un hème B.

2. DIVERSITÉ DES TÉTRAPYRROLES

Le tableau suivant donne une idée de la diversité des structures et des fonctions des tétrapyrroles. En plus des noyaux hème, on a mentionné les **chlorophylles**, constituées de noyaux **chlorine** (10 doubles liaisons) ayant complexé un ion Mg^{II}, et les **bactériochlorophylles**, possédant également un ion Mg^{II}, mais constituées de noyaux **bactériochlorine** (9 doubles liaisons). Des modifications plus importantes caractérisent le noyau **corrine** de la **cobalamine** (vitamine B12, fiche 50) ou le noyau **corphine** du **cofacteur F430**, complexant un ion Ni^{I}, qui participe à la formation du méthane par les **archées** méthanogènes.

Tétrapyrrole	Métal	Protéine/enzyme	Rôle biologique	Organismes
Hème A (porphyrine)	Fe^{II}/Fe^{III}	Cytochromes de type a	Respiration cellulaire (Fiche 83)	Eucaryotes, bactéries, archées.
Hème B (porphyrine)	Fe^{II}	Hémoglobine	Transport sanguin du dioxygène	Vertébrés
	Fe^{II}	Myoglobine	Réserve musculaire de dioxygène	Vertébrés
	Fe^{II}	Leghémoglobine	Piégeage du dioxygène	Légumineuses
	Fe^{II}/Fe^{III}	Cytochromes de type b	Respiration cellulaire (Fiche 83)	Eucaryotes, bactéries, archées.
	Fe^{II}	Cytochromes P450	Oxydation de métabolites ou de xénobiotiques	Eucaryotes, bactéries, archées.
	Fe^{II}	Catalase	Destruction de H_2O_2	Eucaryotes, bactéries, archées.
	Fe^{II}	Peroxydases héminiques	Oxydation de métabolites par H_2O_2	Eucaryotes, bactéries, archées.
Hème C (porphyrine)	Fe^{II}/Fe^{III}	Cytochromes de type c	Respiration cellulaire (Fiche 83)	Eucaryotes, bactéries, archées.
Chlorophylles (chlorine)	Mg^{II}	Photosystèmes	Photosynthèse	Plantes, algues, cyanobactéries
Bactériochlorophylles (bactériochlorine)	Mg^{II}	Photosystèmes	Photosynthèse	Bactéries sulfureuses pourpres
Cobalamine (corrine)	Co^{I}	MéthylmalonylCoA mutase Méthionine synthase	Assimilation des acides gras à nombre impair de carbone. Biosynthèse de la méthionine	Eucaryotes, bactéries, archées.
Cofacteur F430 (corphine)	Ni^{I}	Méthyl-Coenzyme M réductase	Production microbienne du méthane	Archées méthanogènes

32 Liaisons « riches en énergie »

Mots clés
Anhydrides d'acide, énolphosphate, thioesters, guanidinophosphate

1. QUALIFICATION DES LIAISONS « RICHES EN ÉNERGIE »

La dénomination « riche en énergie » s'adresse à un groupe de liaisons et de molécules dont, plus exactement, « l'hydrolyse est caractérisée par une enthalpie libre standard de réaction exceptionnellement importante » ; on peut préférer cette dernière expression pour sa rigueur et sa précision, mais on comprend facilement le succès la première, plus courte et plus imagée.

Les composés riches en énergie sont produits par des réactions du métabolisme énergétique (glycolyse, cycle tricarboxylique, oxydations phosphorylantes) ; ils sont utilisés pour effectuer des biosynthèses (métabolites, polymères), des transports transmembranaires (transports actifs contre les gradients de concentration) ou des **transductions d'énergie** (production d'énergie mécanique, lumineuse, électrique, calorifique).

2. ANHYDRIDES D'ACIDE PHOSPHORIQUE

L'expression **anhydride d'acide phosphorique** fait référence au produit de la réaction inverse de la réaction d'hydrolyse : la déshydratation de deux molécules de phosphate ou d'acide phosphorique. On peut également nommer ce groupement **diphosphate**, comme dans l'adénosine diphosphate (ADP), ou **pyrophosphate** par référence à l'**acide pyrophosphorique** $H_4P_2O_7$. La molécule d'adénosine triphosphate (ATP) possède une chaîne de triphosphate qui contient deux liaisons anhydride d'acide phosphorique (Fiche 33).

L'hydrolyse de la fonction anhydride d'acide d'un ester de diphosphate conduit à la libération d'un ester de phosphate et d'un groupe phosphate ; l'enthalpie libre standard de cette réaction tourne autour de $-30\ kJ \cdot mol^{-1}$.

$$R{-}O{-}P(=O)(O^-){-}O{-}P(=O)(O^-){-}O^- + H_2O \longrightarrow R{-}O{-}P(=O)(O^-){-}O^- + {}^-O{-}P(=O)(OH){-}O^- + H^+$$

Ester de diphosphate — Ester de phosphate — Phosphate

Il ne faut pas confondre les anhydrides d'acide avec les **esters de phosphate**, composés « pauvres en énergie », dont l'hydrolyse conduit à la formation d'un acide et d'un alcool, une réaction dont l'enthalpie libre standard d'hydrolyse se situe vers $-15\ kJ \cdot mol^{-1}$.

$$R_1{-}O{-}PO_3^{2-} + H_2O \longrightarrow R_1{-}OH + HPO_4^{2-}$$

Ester de phosphate (monophosphate) — Alcool — Phosphate

3. ANHYDRIDES MIXTES (CARBOXYLES PHOSPHATE)

On appelle ainsi les molécules dans lesquelles se trouvent associés les groupements acyl et phosphate. Leur nom vient également de la réaction de déshydratation, l'inverse de l'hydrolyse.

$$R_1{-}CO{-}O{-}PO_3^{2-} + H_2O \longrightarrow R_1{-}COO^- + HPO_4^{2-} + H^+$$

Anhydride mixte (Carboxyle phosphate) — Carboxylate — Phosphate

La molécule typique de cette liaison est le 1,3 bisphosphoglycérate, intermédiaire de la glycolyse, dont l'hydrolyse est caractérisée par $\Delta_r G'^{o} = -50\ \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$:

1,3 Bisphosphoglycérate + H_2O ⟶ 3 Phosphoglycérate + Phosphate + H^+

4. ESTER PHOSPHORIQUE D'ÉNOL

L'hydrolyse d'un **ester phosphorique d'énol** conduit à la libération d'un phosphate et la formation d'une cétone. L'enthalpie libre standard de cette réaction tourne autour de $-60\ \text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Énolphosphate + H_2O ⟶ Cétone + Phosphate

Cette enthalpie libre standard d'hydrolyse est très élevée, bien qu'il s'agisse d'un ester de phosphate. En fait, si la réaction s'arrêtait à la production d'énol, le potentiel d'hydrolyse serait seulement de ~ – 15 kJ · mol–1, car l'essentiel de l'énergie libérée vient de l'isomérisation de l'énol, instable, en cétone avec un $\Delta_r G'^0$ d'environ – 45 kJ · mol–1 (prototropie, cf. Fiche 10).

énol

cétone

Le représentant principal de cette classe est le phosphoénolpyruvate, intermédiaire de la glycolyse dont l'enthalpie libre d'hydrolyse est chiffrée à – 62 kJ · mol–1 dans les conditions standard.

Phosphoénolpyruvate

5. GUANIDINO-PHOSPHATES

Les représentants principaux de ce groupe de composés riches en énergie sont la créatine phosphate et l'arginine phosphate qui constituent les réserves de phosphates riches en énergie des muscles, respectivement chez les vertébrés et chez les invertébrés. Les groupes guanidino-phosphate de ces deux molécules sont construits de la même manière : le groupe guanidino (en couleur) se trouve directement lié par l'un des azotes terminaux au phosphore du groupe phosphate.

Créatine phosphate

Arginine phosphate

Le rôle métabolique de ces composés consiste à régénérer l'ATP consommé au cours d'un effort musculaire bref et intense. L'hydrolyse de ces composés libère une énergie d'environ – 40 kJ · mol^{-1}, soit un peu plus que l'hydrolyse de la molécule d'ATP.

$H_2N{-}C({=}N{-}PO_3^{2-}){-}NR_1R_2$ + 2 H_2O ⟶ $H_2N{-}C({=}NH_2^+){-}NR_1R_2$ + $^-O{-}PO(OH){-}O^-$ + OH^-

Groupe guanidinophosphate — Groupe guanidinium — Phosphate

6. THIOESTERS

Les thioesters, comme l'acétyl-Coenzyme A (Fiche 81) et tous les acyl-Coenzyme A (Fiche 84) sont caractérisés par des $\Delta_r G'^o$ d'hydrolyse de l'ordre de – 30 kJ · mol^{-1}.

$R_1{-}CO{-}S{-}R_2$ + H_2O ⟶ $R_1{-}CO{-}O^-$ + $HS{-}R_2$ + H^+

Thioester — Carboxylate — Thiol

Cette dépense d'énergie permet d'assurer les réactions d'acétylation et plus généralement d'acylation.

7. RÉCAPITULATION

Type de liaison riche en énergie	Enthalpie libre standard d'hydrolyse $\Delta_r G'^o$ kJ · mol^{-1}
Anhydride d'acide phosphorique	~ – 30
Anhydride mixte carboxyl phosphate	~ – 50
Ester phosphorique d'énol	~ – 60
Guanidino phosphate	~ – 40
Thioester	~ – 30

33 Rôle central de l'ATP

Mots clés

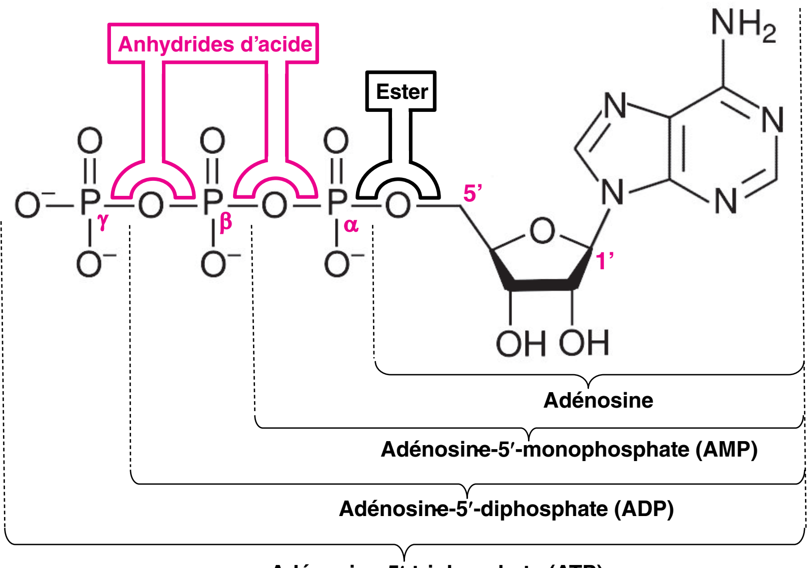
Adénosine triphosphate, composés riches en énergie, réactions couplées, métabolisme énergétique

1. OBJECTIF

Comprendre pourquoi l'adénosine triphosphate (ATP) est un composé « riche en énergie », et réaliser que l'ATP joue un rôle central dans le métabolisme.

2. LA MOLÉCULE D'ATP

La molécule d'ATP est composée d'un nucléoside (adénosine : adénine en liaison *N*-glycosidique avec une molécule de ribose, cf. fiche 71) dont la fonction alcool en 5' du ribose est estérifiée par une molécule de triphosphate :



Le caractère riche en énergie de l'ATP est dû aux deux fonctions **anhydride d'acide** du triphosphate. L'hydrolyse de l'une ou l'autre de ces deux fonctions est très exergonique :

$$ATP^{4-} + H_2O \longrightarrow ADP^{3-} + P_i + H^+ \qquad \Delta_r G'^o = -31 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

$$ATP^{4-} + H_2O \longrightarrow AMP^{2-} + PP_i + H^+ \qquad \Delta_r G'^o = -33 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

3. L'HYDROLYSE DE L'ATP LIBÈRE UNE QUANTITÉ MODÉRÉE EN ÉNERGIE

Le tableau suivant regroupe les valeurs de $\Delta_r G'^o$ qui accompagnent l'hydrolyse de plusieurs composés phosphorylés importants dans le métabolisme.

N°	Réaction d'hydrolyse	$\Delta_r G'^o$ ($kJ \cdot mol^{-1}$)
1	Phosphoénolpyruvate + $H_2O \longrightarrow$ Pyruvate + P_i	–62
2	1,3-Bisphosphoglycérate + $H_2O \longrightarrow$ 3-Phosphoglycérate + P_i	–50
3	Créatine phosphate + $H_2O \longrightarrow$ Créatine + P_i	–43
4	Acétyl-phosphate + $H_2O \longrightarrow$ Acétate + P_i	–43
5	ATP + $H_2O \longrightarrow$ ADP + Pi	–31
6	Glucose-1-phosphate + $H_2O \longrightarrow$ Glucose + P_i	–21
7	Glucose-6-phosphate + $H_2O \longrightarrow$ Glucose + P_i	–14
8	Fructose-6-phosphate + $H_2O \longrightarrow$ Fructose + P_i	–14
9	Glycérol-3-phosphate + $H_2O \longrightarrow$ Glycérol + P_i	–10

L'examen de ces valeurs révèle que l'énergie libérée lors de l'hydrolyse de l'ATP occupe une position intermédiaire entre, par exemple, l'énergie d'hydrolyse du **phosphoénolpyruvate** et celle du **glucose-6-phosphate**. Le groupement phosphate du phosphoénolpyruvate pourra se retrouver dans le glucose-6-phosphate grâce à la succession de deux réactions, chacune faisant intervenir l'ATP et l'ADP.

4. LE TRANSFERT DE PHOSPHATE EST LE RÉSULTAT DU COUPLAGE DE DEUX RÉACTIONS DANS LESQUELLES INTERVIENT L'ATP

La formation de l'ATP à partir du phosphoénolpyruvate est théoriquement possible en effectuant simultanément, la réaction 1 et l'inverse de la réaction 5 :

$$\text{Phosphoénolpyruvate} + H_2O \longrightarrow \text{Pyruvate} + P_i \qquad \Delta_r G'^o = -62\ kJ \cdot mol^{-1}$$
$$\text{ADP} + \text{Pi} \longrightarrow \text{ATP} + H_2O \qquad \Delta_r G'^o = +31\ kJ \cdot mol^{-1}$$

Le bilan de ces deux réactions s'écrit :

$$\text{Phosphoénolpyruvate} + \text{ADP} \longrightarrow \text{Pyruvate} + \text{ATP} \qquad \Delta_r G'^o = -31\ kJ \cdot mol^{-1}$$

Ce bilan fait apparaître la synthèse d'ATP aux dépens du phosphoénolpyruvate, une réaction exergonique, donc spontanée. Cette dernière réaction est effectivement catalysée par la **pyruvate kinase**, une enzyme qui intervient à la fin de la **glycolyse** (voir fiche 80) et qui effectue le transfert direct du phosphate sur l'ADP (sans l'intervention d'une molécule d'eau).

À son tour l'ATP est en mesure de transférer un groupe phosphate sur le glucose, ce qu'on peut imaginer de manière semblable en combinant la réaction 5 et l'inverse de la réaction 7 :

$$ATP + H_2O \longrightarrow ADP + Pi \qquad \Delta_r G'^o = -31\ kJ \cdot mol^{-1}$$

$$Glucose + P_i \longrightarrow Glucose\text{-}6\text{-}phosphate + H_2O \qquad \Delta_r G'^o = +14\ kJ \cdot mol^{-1}$$

La réaction-bilan correspondante, une réaction également exergonique, spontanée, fait apparaître la formation de glucose-6-phosphate aux dépens de l'ATP. Cette réaction est effectivement catalysée par la **glucokinase**, enzyme qui intervient au tout début de la glycolyse, et qui effectue le transfert direct du phosphate sur le glucose (sans l'intervention d'une molécule d'eau) :

$$ATP + Glucose \longrightarrow ADP + Glucose\text{-}6\text{-}phosphate \qquad \Delta_r G'^o = -17\ kJ \cdot mol^{-1}$$

Le couplage des réactions catalysées par la pyruvate kinase et la glucokinase permet donc le transfert du phosphate du phosphoénolpyruvate au glucose, transfert dans lequel l'ATP joue le rôle d'intermédiaire :

$$Phosphoénolpyruvate + ADP \longrightarrow Pyruvate + ATP$$

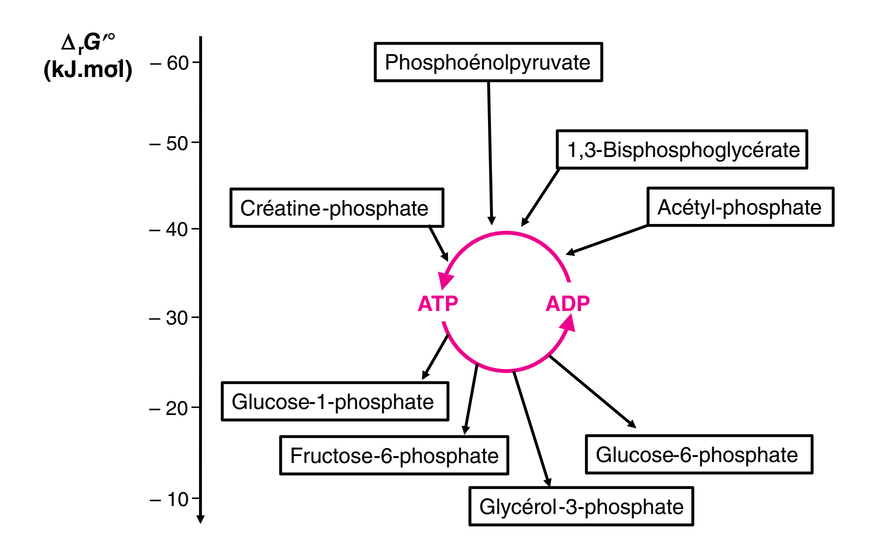
$$ATP + Glucose \longrightarrow ADP + Glucose\text{-}6\text{-}phosphate$$

$$Phosphoénolpyruvate + Glucose \longrightarrow Pyruvate + Glucose\text{-}6\text{-}phosphate$$

5. L'ATP EST UN INTERMÉDIAIRE ENTRE LES COMPOSÉS TRÈS RICHES EN ÉNERGIE ET LES COMPOSÉS PAUVRES EN ÉNERGIE

La position intermédiaire de l'ATP dans le tableau de la page précédente correspond donc également à la fonction d'intermédiaire jouée par l'ATP dans le transfert du groupement phosphate.

Cette fonction d'intermédiaire est illustrée dans la figure suivante qui regroupe les réactions détaillées précédemment ; les fournisseurs de groupements phosphate (très riches en énergie) et les produits finaux de ces transferts (pauvres en énergie) sont disposés à hauteur de l'énergie (enthalpie libre standard) libérée par leur hydrolyse :



6. POUR ALLER PLUS LOIN

Toutes les réactions que nous venons d'évoquer illustrent les activités des enzymes appelées **kinases**, enzymes catalysant la phosphorylation de fonctions alcool ou amine au moyen de l'ATP (classe des transférases, Fiche 52).

L'énergie de l'ATP est également utilisée par une autre famille d'enzymes, les **synthétases**, également appelées **ligases** (Fiche 52) ; ces enzymes catalysent la formation de liaisons covalentes entre deux carbones, et le phosphate libéré de l'ATP ne se retrouve pas dans le produit de la réaction.

34 Acides aminés

Mots clés

Acides aminés, chiralité, série L, chaîne latérale, protéines

1. DANS L'EAU, LES ACIDES AMINÉS EXISTENT A L'ÉTAT IONISÉ

Les acides aminés (ou aminoacides) qui constituent les protéines sont tous des **acides α-aminés**. Le carbone α porte une fonction acide carboxylique, une fonction amine et une chaîne latérale (R). En solution dans l'eau, la fonction acide se dissocie en carboxylate et H^+ et la fonction amine devient protonée :

COO^- ; H ; α ; NH_3^+ ; R

Représentation de Cram

COO^- ; NH_3^+ ; α ; H ; R

Représentation de Fischer

2. 19 ACIDES AMINÉS SUR 20 SONT DES MOLÉCULES CHIRALES

Le carbone α est un **centre chiral** chez dix neuf acides aminés ; ces derniers appartiennent tous à la série L : dans la représentation de Fischer (Fiche 12), la fonction amine est projetée à gauche du squelette carboné. Seule exception, la glycine, dont la chaîne latérale est constituée d'un atome d'hydrogène. Les carbones β de l'isoleucine et de la thréonine sont également des centres chiraux.

3. LES PROTÉINES SONT CONSTITUÉES DE RÉSIDUS D'ACIDES AMINÉS

Les fonctions amine et carboxyle du carbone α disparaissent au cours de la synthèse des protéines, suite à la formation des liaisons peptidiques (Fiche 39). Dès lors, comme on ne peut plus parler d'acides aminés, on dira qu'une chaîne polypeptidique est une séquence de **résidus d'acides aminés**. Les codes, à une ou trois lettres (cf. tableau), facilitent l'archivage et l'analyse informatique de ces séquences : si le nombre moyen de résidus tourne autour de quelques centaines, certaines chaînes polypeptidiques ont d'une taille considérable (ex. la **titine**, ~27 000 résidus).

4. POUR ALLER PLUS LOIN

Un certain nombre de résidus subissent des modifications une fois les protéines synthétisées (modifications post-traductionnelles) : modifications catalysées par des enzymes (hydroxylation de la **proline** ou de la **lysine** du **collagène**), ou résultats de réactions autocatalytiques (photophore de la **protéine fluorescente verte**). Par ailleurs, il existe dans la nature une multitude d'autres acides aminés, y compris de la série D, que l'on ne retrouve pas dans les protéines.

Nom	Codes		Formule (chaîne latérale en couleur)	Remarque
Glycine	Gly	G	$H{-}CH(NH_3^+){-}COO^-$	Non chiral
Chaîne latérale (R) apolaire aliphatique				
Alanine	Ala	A	$CH_3{-}CH(NH_3^+){-}COO^-$	
Valine	Val	V	$(CH_3)_2CH{-}CH(NH_3^+){-}COO^-$	
Leucine	Leu	L	$(CH_3)_2CH_2{-}CH_2{-}CH(NH_3^+){-}COO^-$	
Isoleucine	Ile	I	$CH_3{-}CH_2{-}CH(CH_3){-}CH(NH_3^+){-}COO^-$	Carbone β chiral
Proline	Pro	P	COO^- NH_2^+	Acide aminé cyclique, fonction amine secondaire
Méthionine	Met	M	$CH_3{-}S{-}CH_2{-}CH_2{-}CH(NH_3^+){-}COO^-$	δ Méthyl thioéther
Chaîne latérale (R) aromatique				
Phénylalanine	Phe	F	COO^- NH_3^+	β Phényl
Tyrosine	Tyr	Y	HO COO^- NH_3^+	β *p*-Hydroxyphényl pK_a = 10.6
Tryptophane	Trp	W	COO^- NH_3^+ N H	β Indolyl
Chaîne latérale (R) polaire non chargée à pH 7				
Sérine	Ser	S	$HO{-}CH_2{-}CH(NH_3^+){-}COO^-$	
Thréonine	Thr	T	$CH_3{-}CH(OH){-}CH(NH_3^+){-}COO^-$	Carbone β chiral
Cystéine	Cys	C	$HS{-}CH_2{-}CH(NH_3^+){-}COO^-$	β Thiol pK_a = 8,2
Asparagine	Asn	N	$NH_2{-}C(=O){-}CH_2{-}CH(NH_3^+){-}COO^-$	
Glutamine	Gln	Q	$NH_2{-}C(=O){-}CH_2{-}CH_2{-}CH(NH_3^+){-}COO^-$	
Chaîne latérale (R) chargée – à pH 7				
Aspartate	Asp	D	$^-OOC{-}CH_2{-}CH(NH_3^+){-}COO^-$	β Carboxyle pK_a = 3,8
Glutamate	Glu	E	$^-OOC{-}CH_2{-}CH_2{-}CH(NH_3^+){-}COO^-$	γ Carboxyle pK_a = 4,2
Chaîne latérale (R) chargée + à pH 7				
Lysine	Lys	K	$^+H_3N{-}CH_2{-}CH_2{-}CH_2{-}CH_2{-}CH(NH_3^+){-}COO^-$	ε Amine pK_a =10,6
Arginine	Arg	R	$H_2N{-}C(=NH_2^+){-}NH{-}CH_2{-}CH_2{-}CH_2{-}CH(NH_3^+){-}COO^-$	δ Guanidino pK_a = 12,5
Histidine	His	H	$H{-}N^+$ N H COO^- NH_3^+	β Imidazole pK_a = 6

35 Courbe de titration des acides aminés

Mots clés

Molécules amphotères, pKa, acide, base, tampon, zwitterion, pH isoélectrique

1. NATURE AMPHOTÈRE DES ACIDES AMINÉS

Chaque acide aminé porte au moins une fonction amine et une fonction carboxyle. Les acides aminés sont des **molécules amphotères**, c'est-à-dire qu'ils se comportent à la fois comme des acides – donneurs de protons - et comme des bases – accepteurs de protons. À pH neutre les amines, protonées, se comportent en acides et les carboxyles, dissociés, se comportent en bases.

2. COURBE DE TITRATION DE LA GLYCINE

La courbe de la figure ci-contre représente la titration d'une solution 0,1 mol·L^{-1} de chlorhydrate de glycine ($NH_3^+–CH_2–COOH, Cl^–$) par la soude. Cette courbe se divise en cinq zones qui correspondent aux modifications successives de la molécule de glycine :

1 — NH_3^+, H_2C, OH, O — Cation

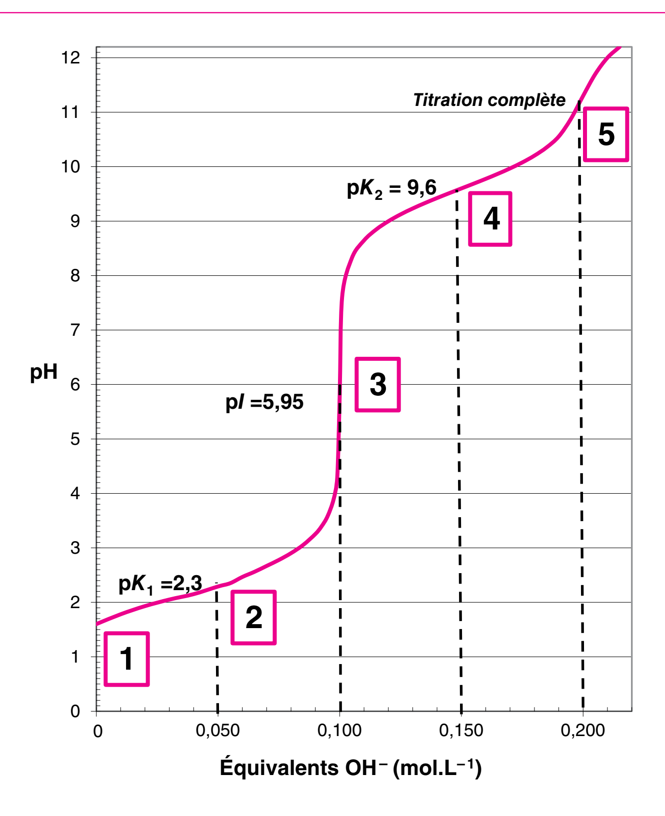
2 — + $OH^–$ ⇄ + H^+

3 — NH_3^+, H_2C, $O^–$, O — Zwitterion

4 — + $OH^–$ ⇄ + H^+

5 — NH_2, H_2C, $O^–$, O — Anion

- 1 : solution initiale de chlorhydrate de glycine. La glycine est représentée par la forme entièrement protonée (cation).
- 2 : les protons du carboxyle sont progressivement neutralisés. À demi-titration, pH = 2,3 = pK_a de la fonction carboxyle.
- 3 : autour du pH isoélectrique, pI = 5,95, la forme intermédiaire, ou **zwitterion,** prédomine (de l'allemand *zwitter*, intermédiaire, hybride). Le zwitterion chargé + et – est une molécule amphotère.
- 4 : la fonction amine protonée perd progressivement sa charge. À demi–titration, pH = 9,6 = pK_a de la fonction amine.
- 5 : tous les protons ont étés neutralisés par la soude. La glycine est représentée par la forme entièrement déprotonée (anion).



3. POUR MÉMOIRE

- Les solutions d'acides aminés peuvent servir de solutions tampons aux valeurs de pH voisines des pK_a.
- Le pH isoélectrique de la glycine est égal à la demi-somme des deux pK_a. De même pour tous les acides aminés portant une seule fonction amine et une seule fonction carboxylique.
- Au pH isoélectrique, la forme zwitterion représente ~99,95 % des molécules de glycine ; l'anion et le cation existent en proportion égales, mais très faibles (~0,025 %) ; la population des molécules de glycine est donc électriquement neutre. Au cours d'une électrophorèse, une molécule d'aminoacide reste immobile si le pH du tampon est égal à son pH isoélectrique.
- La forme électriquement neutre des acides aminés « acides » est également prédominante au pH isoélectrique : on calcule ce pH en faisant la demi-somme des pK_a des deux fonctions acide carboxylique, soit 2,8 pour l'acide aspartique et 3,2 pour l'acide glutamique. En ce qui concerne les acides aminés « basiques » (lysine, arginine, histidine), la valeur du pH isoélectrique est égale à la demi-somme des pK_a des fonctions protonées à pH 7, soit 10,7 pour l'arginine, 9,9 pour la lysine et 7,6 pour l'histidine.

36 Biosynthèse des aminoacides

Mots clés

Acides aminés non essentiels, acides aminés essentiels, arginine, cystéine, phénylalanine

1. SURVOL

La présence des vingt acides aminés est nécessaire pour que la synthèse des protéines se déroule normalement. Au besoin, les humains sont capables d'en synthétiser dix d'entre eux (**acides aminés non-essentiels**) mais ils doivent trouver les dix autres dans leur alimentation (**acides aminés essentiels**) ; toutefois les notions d'acides aminés essentiels et non-essentiels ne sont pas aussi tranchées pour certains d'entre eux (interconversions d'aminoacides, conditions physiologiques particulières).

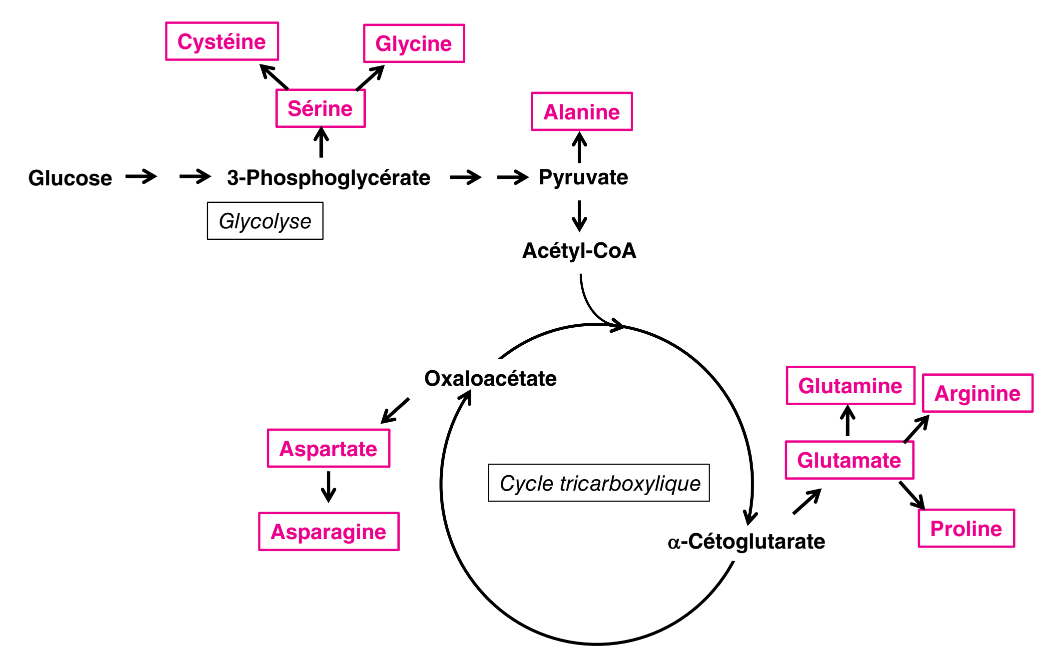
2. LES VOIES DE BIOSYNTHÈSE DES AMINOACIDES

Les dix acides aminés non-essentiels dérivent de quatre précurseurs :

- le **3-phosphoglycérate**, intermédiaire de la troisième partie de la glycolyse (Fiche 80), conduit à la **sérine**, précurseur à son tour de la **cystéine** et de la **glycine** ;
- le **pyruvate**, dernier intermédiaire de la glycolyse (Fiche 80) et porte d'entrée du cycle tricarboxylique (Fiche 82), est transformé en **alanine** ;
- l'α-**cétoglutarate**, intermédiaire du cycle tricarboxylique (Fiche 82) est transformé en **glutamate**, lui-même à l'origine de la **glutamine**, de l'**arginine** et de la **proline** ;
- l'**oxaloacétate**, dernier intermédiaire du cycle tricarboxylique (Fiche 82), est transformé en **aspartate**, précurseur de l'**asparagine**.

Les trois derniers, le pyruvate, l'α-cétoglutarate et l'oxaloacétate, sont des α-cétoacides, et sont transformés en acides aminés à la suite d'une simple transamination ; par exemple, l'interconversion catalysée par la glutamate oxaloacétate transaminase (GOT) :

α-Cétoglutarate + Aspartate ⇌ (GOT) Glutamate + Oxaloacétate



Les dix acides aminés non essentiels dérivent d'intermédiaires de la glycolyse et du cycle tricarboxylique.

3. ACIDES AMINÉS ESSENTIELS

Il s'agit des acides aminés suivants :

- les trois acides aminés à chaîne latérale branchée : valine, leucine, isoleucine ;
- les trois acides aminés à chaîne latérale aromatique : phénylalanine, tyrosine, tryptophane ;
- l'histidine, la lysine, la thréonine et la méthionine.

En toute rigueur, la tyrosine ne devrait pas faire partie de cette liste, car elle est produite dans l'organisme à partir de la phénylalanine par la phénylalanine hydroxylase.

4. ACIDES AMINÉS SEMI-ESSENTIELS

Bien qu'ils soient effectivement synthétisés par les animaux, le statut de certains acides aminés non-essentiels n'est pas aussi tranché.

Par exemple, la cystéine, dont le squelette carboné dérive de la sérine, mais dont l'atome de soufre est emprunté à la méthionine, d'origine uniquement alimentaire. Cela vient du fait que les animaux sont incapables d'assimiler le soufre minéral et doivent utiliser le soufre des aminoacides de l'alimentation. La synthèse de la cystéine, aminoacide non-essentiel, dépend en fait de l'approvisionnement en méthionine, aminoacide essentiel.

L'arginine est pour sa part considéré comme un acide aminé « semi-essentiel » dont la synthèse endogène se révèle parfois insuffisante, par exemple pour la femme enceinte, la femme allaitante et le nourrisson.

37 Dérivés d'aminoacides

Mots clés

Information, hormone, neurotransmetteurs, amines biogènes, toxicité, S+adénosylméthionine, créatine, sarcosine, sarkosyl, choline, bêta alanine

1. AMINES BIOGÈNES

Les amines biogènes résultent de la décarboxylation enzymatique d'acides aminés. Certaines d'entre elles sont des neurotransmetteurs produits dans l'organisme. La présence d'amines biogènes dans les aliments riches en protéines est le signe d'une contamination microbienne ; toxiques à des degrés divers, ces molécules sont responsables d'une bonne part des intoxications alimentaires.

Amine biogène	Précurseurs
Agmatine	Arginine
Cadavérine	Lysine
Histamine	Histidine
Phényléthylamine	Phénylalanine
Putrescine	Ornithine
Tryptamine	Tryptophane
Tyramine	Tyrosine

Des sept molécules principales de ce groupe, la plus connue est l'histamine, produit de la décarboxylation de l'histidine par l'histidine décarboxylase, enzyme dont le coenzyme est le phosphate de pyridoxal (Fiche 49).

Histidine Histamine

L'histamine est un médiateur chimique intervenant dans les réactions inflammatoires, agissant sur le système circulatoire, sur le maintien d'un état d'éveil satisfaisant.

La putrescine entre dans la composition des **polyamines** : **spermine**, et **spermidine**, molécules impliquées la stabilisation des structures des acides nucléiques et la progression du cycle cellulaire. La recherche anti-cancéreuse s'y intéresse de près ; contrairement aux cellules saines, les cellules cancéreuses importent activement les polyamines présentes dans leur environnement ; comme ces systèmes de transport sont relativement peu spécifiques, il est facile de concevoir des analogues synthétiques de spermine ou de spermidine dont la cytotoxicité se révèle une fois concentrés dans les tumeurs.

A NH_3^+–$(CH_2)_4$–NH_3^+

B NH_3^+–$(CH_2)_4$–NH_2^+–$(CH_2)_3$–NH_3^+

C NH_3^+–$(CH_2)_3$–NH_2^+–$(CH_2)_4$–NH_2^+–$(CH_2)_3$–NH_3^+

Polyamines : **A.** Putrescine, **B.** Spermidine, **C.** Spermine.
À pH neutre, les fonctions amine primaire et les fonctions amine secondaire des polyamines sont à l'état protoné.

2. MOLÉCULES DU SYSTÈME NEURO-ENDOCRINIEN

Ces molécules diverses ont en commun la propriété de transmettre une information capable d'induire un changement d'activité dans une cellule cible. Hormones, neurotransmetteurs et neurohormones entrent dans cette catégorie. Le terme catécholamines recouvre 3 dérivés de la tyrosine, hormones ou neurotransmetteurs : la dopamine, la noradrénaline et l'adrénaline.

Tyrosine → (*Tyrosine hydroxylase*) → DOPA → (*DOPA décarboxylase*) → Dopamine → (*Dopamine β-hydroxylase*) → Noradrénaline → (*Phényléthanolamine N-méthyltransférase*) → Adrénaline

Si la DOPA n'est qu'un intermédiaire réactionnel, sans rôle physiologique majeur, l'adrénaline joue un rôle de premier plan dans le fonctionnement du système nerveux sympathique, ayant une action essentiellement excitatrice. La dopamine agit au niveau du système nerveux central dans le contrôle des mouvements. La noradrénaline provoque la mise en état d'alerte de l'organisme et prépare à l'activité physique et intellectuelle.

Les **hormones thyroïdiennes** comprennent deux dérivés de la tyrosine auxquels la peroxydase thyroïdienne fixe 3 ou 4 atomes d'iode (tri-iodothyronine ou T3, tétra-iodothyronine ou T4). T3 et T4 sont nécessaires pour la croissance de l'organisme et stimulent la production de chaleur.

T4 : Thyroxine (3,5,3′,5′ tétraiodothyronine)

T3 : 3,5,3′ triodothyronine

Le **GABA** ou γ-amino-butyrate, neuromédiateur inhibiteur, est issu de la décarboxylation du **glutamate** par la glutamate décarboxylase (noter l'inversion de l'ordre d'identification des carbones α, β et γ).

Acide L-glutamique

Acide γ-aminobutyrique

3. S⁺ADÉNOSYLMÉTHIONINE ; DÉRIVÉS N-MÉTHYLÉS

Certains dérivés *N*-méthylés des acides aminés entrent dans la constitution de molécules d'importance structurale ou métabolique. La méthylation des acides aminés fait intervenir la **S⁺adénosylméthionine** (SAM), un dérivé sulfonium qui se forme à partir de la méthionine et de l'ATP :

$$\text{Méthionine} + \text{ATP} \longrightarrow \text{S}^+\text{Adénosylméthionine} + \text{Adénosine} + P_i + PP_i$$

Cette réaction est remarquable à plusieurs titres. Les trois phosphates de l'ATP se trouvent libérés à l'issue de la réaction. Ensuite, la SAM possède une charge positive permanente sur l'atome de soufre ; ce composé riche en énergie et relativement instable est utilisé dans les réactions de méthylation des fonctions amine de certains acides aminés comme la glycine et de dérivés d'acides aminés comme l'éthanolamine, dérivée de la sérine :

S⁺ Adénosylméthionine

• **Créatine**

La créatine, ou *N*-méthylguanidinoacétate (A) est un dérivé de la glycine. Sa forme phosphorylée, la créatine phosphate est présente en grande concentration dans le muscle et sert à régénérer l'ATP dépensé au cours de la contraction musculaire (Fiches 32, 33). La créatine se transforme spontanément en créatinine (B), molécule éliminée par les reins ; la créatininémie – taux sanguin de créatine – renseigne sur l'état de la fonction rénale.

H_2N^+, H_2N, N, CH_3, O, O^- — A

HN, O, H_2N, +, N, CH_3 — B

• **Sarcosine**

La sarcosine ou *N*-méthylglycine (C) est également trouvée dans le muscle. Ce dérivé joue un rôle de donneur de méthyle à des dérivés d'acide folique. On utilise au laboratoire un détergent anionique puissant, le sarkosyl ou lauroylsarcosine (D), dans le but de lyser des cellules dont on veut isoler l'ADN.

H_3C, N, H, O, O^- — C

H_3C, N, O, O^-, O, $C_{10}H_{21}$ — D

• **Choline**

La choline est le produit de trois méthylations successives de l'azote de l'éthanolamine (E), elle-même produit de décarboxylation de la sérine. On obtient successivement la *N*-méthyléthanolamine, la *N*-diméthyléthanolamine puis finalement la choline ou *N*-triméthyléthanolamine (F), qui possède une charge positive permanente sur l'azote quaternaire. L'éthanolamine et la choline phosphorylées sont des constituants des phospholipides et des sphingolipides (Fiche 68).

$HO—CH_2—CH_2—NH_3^+$ — E

$HO—CH_2—CH_2—N^+(CH_3)_3$ — F

4. UNE DERNIÈRE POUR LA ROUTE

Le coenzyme A (Fiches 50, 81) contient une molécule de β-alanine (G) : elle provient de la décarboxylation de l'acide aspartique.

HO, O, α, β, NH_2 — G

38 Fonctions biologiques des protéines

Mots clés

Catalyse, stockage, transport, structure, mouvement, communication, immunité, expression

1. OBJECTIF

Recenser la diversité des fonctions assurées par les protéines, pour concevoir leur importance biologique.

2. CATALYSE

Certaines protéines, les **enzymes**, sont des catalyseurs (Fiches 47, 52). Les enzymes augmentent la vitesse d'une réaction biochimique thermodynamiquement possible, en transformant le(s) substrat(s) en produit(s).

Les enzymes sont spécifiques d'un substrat ou d'un type de réaction. Par exemple, l'enzyme **phénylalanine hydroxylase** (PAH) transforme la phénylalanine en tyrosine (Fiche 36). Une mutation de la PAH peut entraîner l'inactivation de l'enzyme et l'accumulation de phénylalanine. Cette accumulation conduit à l'apparition de la maladie, appelée **phénylcétonurie**.

De nombreuses fonctions détaillées par la suite découlent en fait des propriétés catalytiques des protéines.

3. MOLÉCULES DE STOCKAGE

Il peut s'agir de protéines utilisées au cours du développement des êtres vivants : c'est le cas par exemple de la **caséine** du lait des Mammifères ou de l'**ovalbumine** de l'œuf. D'autres protéines de stockage existent tout au long de la vie : la **ferritine**, une protéine liant le fer et assurant son stockage, notamment dans le foie.

4. TRANSPORT DE MOLÉCULES

Certaines de ces protéines sont circulantes, comme les apolipoprotéines des lipoprotéines impliquées dans le transport des lipides (triglycérides, cholestérol, phospholipides) dans le sang (Fiche 74). D'autres sont fixes et assurent le transport d'une molécule de part et d'autre d'une membrane (voir Fiches 72 et 73). Ce passage se fait à travers des **canaux** si la molécule suit son gradient de concentration. Le canal Na^+ voltage dépendant en est un exemple. Si la molécule transportée va à l'inverse de son gradient de concentration, la protéine prend le nom de **pompe** et son fonctionnement nécessite un couplage à une réaction exergonique (Fiche 73). La pompe **H^+/K^+ ATPase**, responsable de l'acidité du suc gastrique, en fait partie. Canaux et pompes peuvent être couplés (symport glucose/Na^+ des tubules rénaux cf. Fiche 73).

5. STRUCTURE

Des protéines assurent le maintien de la forme des cellules. C'est le rôle des protéines du **cytosquelette** (**tubuline**, **actine**). Les protéines des **jonctions intercellulaires** relient entre elles plusieurs cellules. Elles sont indispensables au maintien de la structure des

tissus. Exemple : les protéines de surface cellulaire appelées MAC (pour *membrane attack complex*).

A l'extérieur des cellules, des protéines de la **matrice extracellulaire** (collagène, élastine) assurent notamment l'organisation des tissus et l'adhérence entre les cellules. Le collagène est la protéine la plus abondante de l'organisme humain dont il représente le quart de la masse protéique.

6. MOUVEMENT

Le raccourcissement des sarcomères des cellules musculaires, étape clé de la **contraction**, nécessite l'interaction entre de nombreuses protéines, principalement l'**actine** et la **myosine**.

La locomotion des spermatozoïdes met en jeu des **flagelles**. L'ondulation des flagelles implique des microtubules constitués de **tubuline** ainsi que des moteurs protéiques : les **dynéines**. L'organisation des **cils** est assez semblable à celle des flagelles. Grâce aux battements des ces cils, le mucus peut s'évacuer des bronches, du nez ou du vagin.

Par ailleurs, diverses protéines (**dynéine**, **kinésine**) jouant des rôles de moteurs moléculaires s'associent aux microtubules pour assurer le déplacement intracellulaire des vésicules, des organites ou encore des chromosomes.

7. COMMUNICATION ET IMMUNITÉ

La communication entre cellules est nécessaire pour un fonctionnement et un développement coordonnés. Certains récepteurs protéiques lient spécifiquement une **hormone** ou un **facteur de croissance**. Prenons l'exemple du récepteur à l'insuline. Il est constitué de 4 sous unités protéiques, 2α et 2β. La liaison spécifique entre l'hormone et les sous unités α entraîne des modifications métaboliques dans les cellules cible de l'insuline.

L'immunité repose également sur la reconnaissance de structures moléculaires par des protéines spécifiques. Ces dernières appartiennent à deux grandes catégories. La première est constituée des anticorps circulants, regroupant les immunoglobulines A, G et M. On trouve dans la seconde catégorie des protéines faisant partie intégrante de membranes cellulaires (ou protéines intrinsèques, Fiche 71) comme les récepteurs TLR (*Toll-like receptors*), les anticorps de surface (immunologlobines de types D et E) ou les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH).

8. RÉGULATION DE L'EXPRESSION

Une grande variété de protéines régulent l'expression des gènes et ce, à différents niveaux. Certaines, les protéines TF (facteurs de transcription), régulent la **transcription** des gènes. D'autres, comme les IRP (iron regulatory proteins), inhibent ou amplifient la **traduction** des ARNm de la ferritine selon la quantité de fer présente dans l'organisme.

39 Liaison peptidique. Structure primaire des protéines

Mots clés

Acide aminé, liaison amide, angles ω, φ et ψ, séquence d'acides aminés

1. LIAISON PEPTIDIQUE

Les peptides et les protéines sont le résultat de l'enchainement d'acides aminés reliés entre eux par une liaison covalente qui est en fait une **liaison amide** formée par déshydratation entre le groupement amine d'un acide aminé et le groupement carboxyle d'un autre acide aminé. Cette liaison est également appelée **liaison peptidique**, d'où le nom de **polypeptides** également donné aux protéines.

$H_2N-CH(R_1)-COOH + H-NH-CH(R_1)-COOH \rightleftharpoons H_2N-CH(R_1)-CO-NH-CH(R_1)-COOH + H_2O$

Liaison amide

Formation de la liaison peptidique.

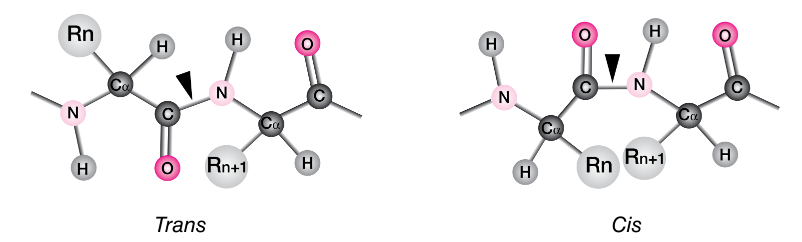
La liaison peptidique est très stable à pH neutre malgré un équilibre de réaction en faveur de l'hydrolyse. La résistance particulière à l'hydrolyse est liée à la résonance des électrons entre les atomes d'oxygène et d'azote de la liaison amide. Ce phénomène de résonance est également à l'origine de deux autres propriétés importantes de la liaison peptidique : (i) il augmente la polarité de la liaison lui octroyant un **moment dipolaire** et (ii) il donne à la liaison peptidique un caractère de double liaison.

$$\left[H_2N-CH(R_1)-C(=O)-NH-CH(R_2)-COOH \longleftrightarrow H_2N-CH(R_1)-C(-O^-)=N^+H-CH(R_2)-COOH \right]$$

Caractère double liaison de la liaison peptidique.

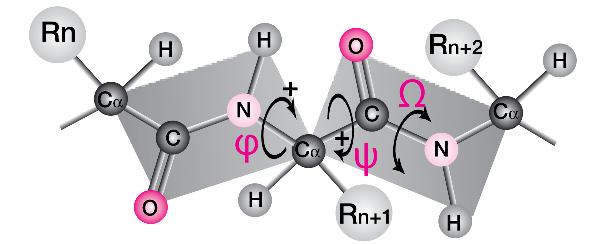
Ce caractère « double liaison » se retrouve dans la longueur de la liaison entre les groupes CO et NH qui est de 1,32 Å. Cette valeur est inférieure à la longueur supposée d'une liaison simple C-N (1,49 Å), mais supérieure à la longueur d'une double liaison C=N (1,27 Å). Le caractère double liaison bloque la rotation autour de l'axe C-N (Fiche 7). De ce fait, le carbone α, le groupe CO du premier acide aminé, le groupe NH et le carbone α du second acide aminé se trouvent dans un même plan. La libre rotation autour de la liaison amide (angle ω) est limitée à deux configurations, soient la configuration *trans* (ω =180°),

où les deux carbones α sont localisés de part et d'autre de la liaison amide et la configuration *cis* (Ω=0°), où les deux carbones α sont localisés du même côté de la liaison.



Liaisons peptidiques cis et trans. ▼ indique la liaison amide.

Dans les protéines, les liaisons peptidiques sont en configuration *trans* à cause des encombrements stériques des chaînes latérales.



Planéité de la liaison peptidique et liberté de rotation autour du carbone α.

Il y a toutefois une rotation possible entre le carbone α et l'azote de la liaison amide (angle φ, lettre grecque phi), ainsi qu'entre le carbone α et le carbone de la liaison amide (angle ψ, lettre grecque psi). Ce sont les valeurs de ces angles qui définissent pour partie le type de structure secondaire (Fiche 39) adoptée par le polypeptide.

2. STRUCTURE PRIMAIRE DES PROTÉINES

L'enchainement successif des acides aminés reliés entre eux par une liaison peptidique constitue la **structure primaire** ou **séquence** de la protéine. Dans cette structure chaque acide aminé prend le nom de **résidu**. La chaîne polypeptidique obtenue a une polarité avec un groupe α-amine présent à une extrémité (extrémité N-terminale) et un groupe α-carboxyle présent à l'autre extrémité (extrémité C-terminale). Par convention une séquence en acides aminés est toujours écrite en partant du résidu N-terminal. Pour décrire la séquence des acides aminés, le suffixe « *-yl* » est ajouté à tous les résidus, sauf au C-terminal. La chaîne peptidique contient une partie répétitive nommée **chaîne principale** ou **squelette** et une partie variable correspondant aux chaines latérales des résidus d'aminoacides.

alanyl – séryl – aspartyl – glycine

$^{+}H_3N-CH-CO \,\vdots\, NH-CH-CO \,\vdots\, NH-CH-CO \,\vdots\, NH-CH-COO^{-}$

(chaînes latérales : CH_3 ; CH_2-OH ; CH_2-COOH ; H)

(Ala-Ser-Asp-Gly)

40 Protéines : structures périodiques (structures secondaires)

Mots clés

Hélice alpha, feuillets bêta, coudes bêta et gamma

1. LA STRUCTURE SECONDAIRE

Les structures secondaires correspondent à l'**organisation tridimensionnelle locale** que peut adopter un polypeptide. Elles sont liées à la répétition des valeurs des angles φ et ψ (Fiche 39) qui ont pour conséquence de répéter l'orientation des acides aminés successifs le long de la chaîne polypeptidique. Il existe trois types d'éléments de structure secondaire : les hélices avec l'**hélice alpha**, les **brins** et **feuillets bêta** et les **coudes.**

2. LES HÉLICES α

Ce type d'organisation correspond à une **structure hélicoïdale** stabilisée par des liaisons hydrogène intrachaînes où l'atome d'oxygène du carbonyle de chaque résidu (n) intéragit avec l'azote du groupement amide situé quatre résidus plus loin ($n + 4$) dans la même séquence.

Un tour d'hélice comporte 3,6 résidus d'acides aminés, espacés les uns des autres par rapport à l'axe de l'hélice de 0,15 nm. Le pas de l'hélice α est donc de 0,54 nm ($0{,}15 \times 3{,}6$).

Les hélices α peuvent être droites ou gauches mais les contraintes stériques favorisent l'hélice droite.

Dans une hélice α comme toutes les liaisons hydrogène sont parallèles à l'axe de l'hélice, l'hélice se comporte comme un macro-dipôle avec une extrémité amino-terminale de polarité positive et l'extrémité carboxy-terminale de polarité négative.

L'hélice alpha n'est pas la seule structure secondaire hélicoïdale. On rencontre des variantes qui présentent des paramètres légèrement différents ; il s'agit de structures hélicoïdales également à pas droit mais elles sont bien moins courantes et ne sont pas très longues car elles sont moins stables. On va ainsi trouver :

- l'hélice 3_{10} d'un pas de 6 Å avec 3 résidus par tour ;
- l'hélice π dont le pas mesure 5 Å et contient 4,4 résidus par tour.

3. LES BRINS ET FEUILLETS β

Un brin β est observé lorsque la chaîne polypeptidique est en configuration étirée où la distance entre les acides aminés adjacents est d'environ 0,35 nm. Dans cette conformation, les carbones α appartiennent simultanément à deux plans différents alors que les atomes de la liaison amide sont situés dans un même plan.

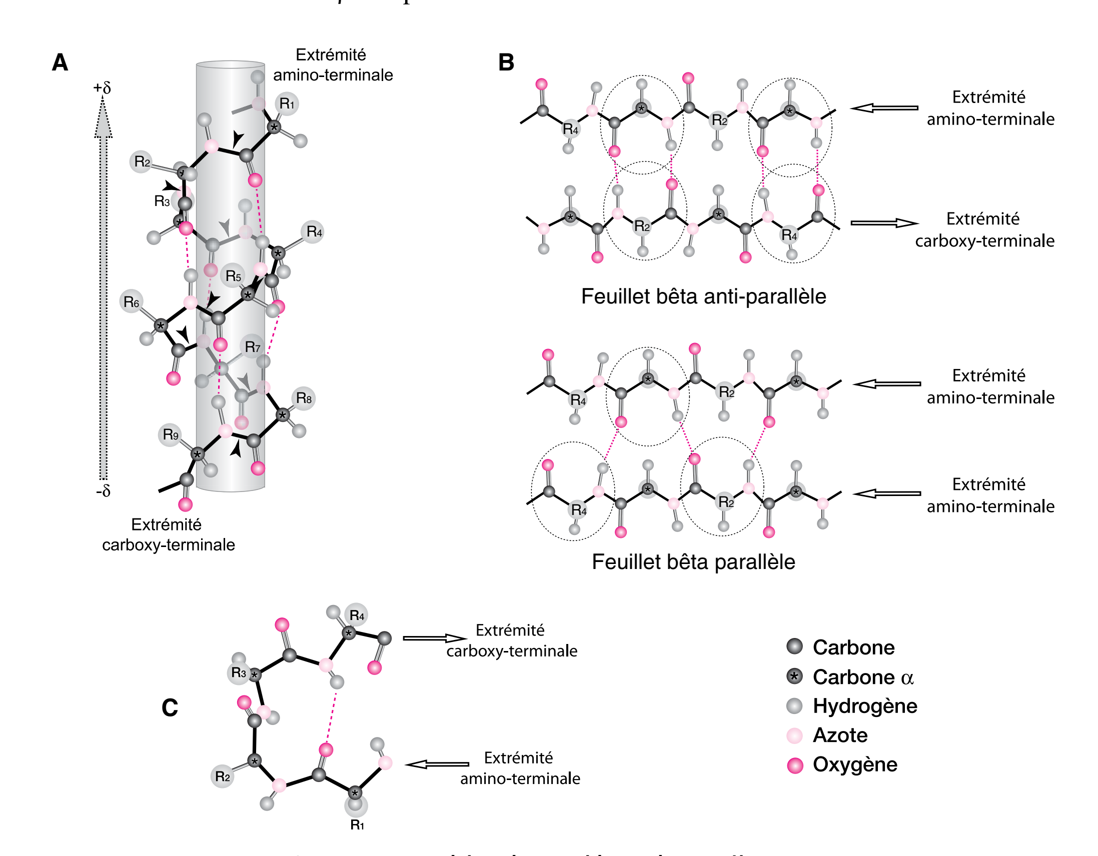
Les chaînes latérales d'acides aminés adjacents sont, quant à elles, orientées vers des directions opposées.

Le brin β est instable, aussi deux ou plusieurs brins β s'associent par des liaisons hydrogène pour former un feuillet bêta. Les brins β adjacents dans un feuillet bêta, peuvent avoir une même direction (brins parallèles) ou des directions opposées (brins antiparallèles).

4. COUDES

Un coude correspond à un segment de 3 à 4 acides aminés qui permettent de relier entre eux deux brins β antiparallèles ou un brin β et une hélice α consécutifs. Il existe deux types de coudes :

- coudes β au niveau desquels l'acide aminé terminal noté i d'un brin bêta établit une liaison hydrogène avec l'acide aminé noté i+3 du brin bêta antiparallèle ou de l'hélice α.
- coudes γ : l'acide aminé terminal d'un brin β établit une liaison hydrogène avec l'acide aminé noté i+2 du brin β antiparallèle ou de l'hélice α.



Structures secondaires des peptides et des protéines
A : Hélice α ; B : Feuillet β ; C : Coude β. Les flèches indiquent la position des liaisons amide ; les traits pointillés indiquent les liaisons hydrogène.

41 Protéines : structures super-secondaires et motifs

Mots clés

Motif HTH, main EF, clé grecque, doigt de zinc, motif α–β–α

Au sein de la protéine, des éléments de structure secondaire créent des arrangements géométriques particuliers nommés **structures super-secondaires** ou **motifs**.
Certains de ces motifs présentent une activité biologique (fixation de cations, fixation à l'ADN, etc.). D'autres participent à une structure plus complexe qui possède une activité biologique.

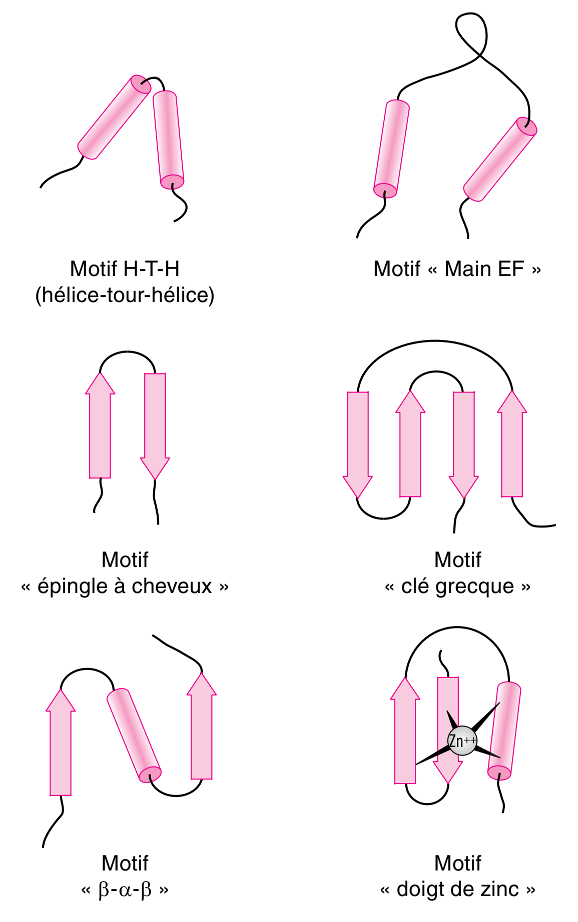


Illustration des principaux motifs rencontrés dans les protéines. Les cylindres représentent des hélices α ; les flèches des brins β, la pointe indiquant l'extrémité carboxy-terminale.

Motif	Description	Fonction	Exemple
H–T–H (hélice tour hélice)	Motif très commun qui consiste en deux hélices alpha reliées par un coude.	Fixation à l'ADN	Répresseur du bactériophage lambda
Main EF (EF hand)	Dans ce motif, deux hélices alpha (dénommées E et F) sont reliées par une boucle qui possède généralement la fonction biologique.	Fixation de cations divalents (Ca^{2+})	Calmoduline
Épingle à cheveux (unité β–β)	Motif qui consiste en un feuillet β antiparallèle formé de deux brins β successifs reliés par un coude.	-	Histone H5
Clé grecque	Dans ce motif, des brins β non adjacents dans la structure primaire s'associent en feuillet selon un motif de « clé grecque »	-	Nucléase de *Staphylococcus aureus*
β–α–β	Dans ce motif, deux brins β parallèles sont reliés par une hélice alpha.	-	Flavodoxine
Doigt de zinc	Également nommé ββα, dans ce motif, deux brins β et une hélice α sont maintenus par liaison d'un ion Zn^{II} à des résidus cystéine et histidine.	Fixation à l'ADN	Facteur de transcription TFIIIA

42 Protéines : conformation, structure tertiaire, notion de domaine

Mots clés

Hélices alpha, feuillets bêta, boucle, repliement, domaine

1. STRUCTURE TERTIAIRE ET CONFORMATION

La structure tertiaire d'une protéine correspond à la conformation qu'adopent les éléments de structure secondaire dans l'espace. Également nommée structure tridimentionnelle ou 3D, elle dépend non seulement de la séquence en acides aminés, mais également des conditions environnementales.

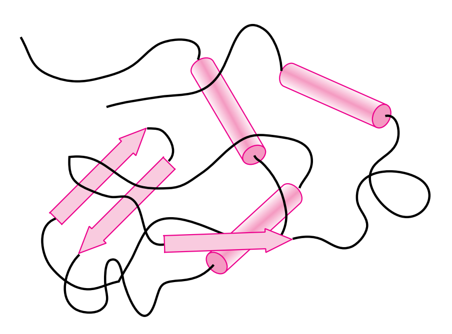


Illustration de l'organisation en structure tertiaire d'une protéine
Les cylindres représentent des hélices α ; les flèches des brins β, la pointe indiquant l'extrémité carboxy-terminale.

La structure tertiaire est une caractéristique plutôt associée aux protéines globulaires au niveau desquelles, des segments de chaîne polypeptidique se replient et créent des **liaisons faibles** (forces intermoléculaires, fiche 9) et des **ponts disulfure** entre des résidus cystéine. L'établissement des liaisons fait diminuer l'enthalpie libre de la structure, ce qui la stabilise. Dans cette structure, les chaînes latérales polaires intéragissent entre elles ou avec le solvant alors que les chaînes latérales hydrophobes ont tendance à se retrouver à l'intérieur de la structure.

2. DOMAINES STRUCTURAUX

Lorsqu'une protéine globulaire possède plus de 200 résidus, elle se replie en domaines (deux ou plus) qui vont avoir une fonction spécifique pour l'activité de la protéine (domaine de liaison à un substrat, domaine catalytique, etc.). Des protéines qui partagent des domaines fonctionnels équivalents font partie d'une même famille protéique. Sur la base de leur structure, on classe les domaines en 4 groupes.

Domaine	Description	Protéine
Domaines α	Structures constituées exclusivement d'hélices α organisées en faisceau.	Hormone de croissance
Domaines β	Structures constituées de brins β antiparallèles organisés en feuillets qui adoptent souvent un enroulement en tonneau.	Immunoglobuline
Domaines α/β	Dans cette structure, un feuillet β central est flanqué d'hélices α. Ce type de domaine est également appelé tonneau TIM (triose phosphate isomérase).	Triose phosphate isomérase
Domaines à feuillets β ouverts	Structures constituées d'un feuillet β central avec de part et d'autre des hélices α qui relient les brins β successifs	Adénylate kinase de porc

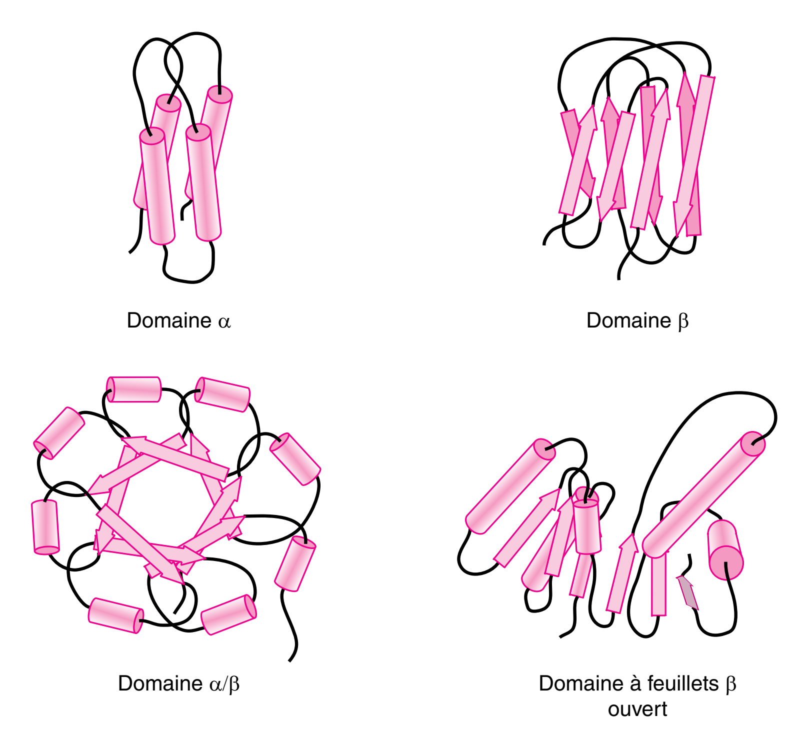


Illustration représentant les 4 types de domaines majeurs retrouvés dans les protéines.

43 Protéines oligomériques, structure quaternaire, symétries

Mots clés

Sous-unités, oligomères, structure quaternaire, symétries

1. STRUCTURE QUATERNAIRE

La structure quaternaire correspond à l'association non covalente de plusieurs **sous-unités** protéiques ou **monomères** identiques ou différents. La structure protéique résultant de l'association est appelée **oligomère**. Les oligomères constitués de deux, trois, quatre ou plus de sous-unités sont appelés dimères, trimères, tétramères etc. Lorsque les sous-unités d'un oligomère sont identiques, le préfixe **homo-** est utilisé (ex. homodimère). Le préfixe **hétéro-** sera utilisé lorsque les sous-unités d'un oligomère sont différentes (ex. hétérotétramère).

L'association entre les sous unités dépend à la fois de la complémentarité de forme et surtout des interactions faibles entre les sous-unités : liaisons électrostatiques, liaisons hydrogène, liaisons de Van der Waals, interactions hydrophobes (Fiche 9).

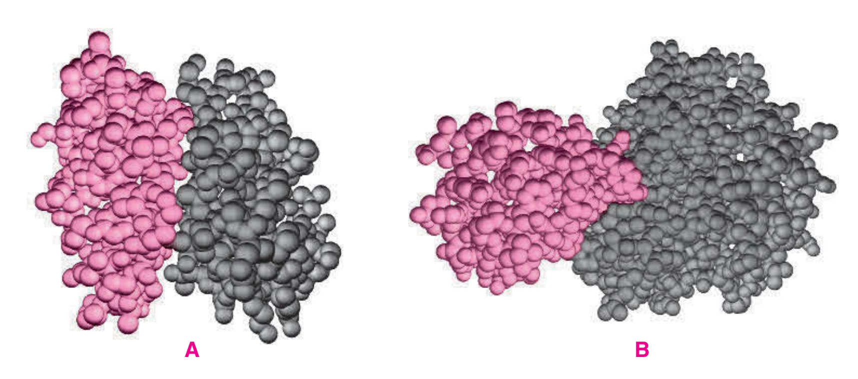


Illustration de structures quaternaires.
A : Homodimère ; B : Hétérodimère.

2. SYMÉTRIES

Lorsque les sous-unités d'un complexe protéique sont identiques, celles-ci vont occuper des positions géométriques équivalentes au sein de l'oligomère, et donc présenter une symétrie par rapport à un axe (symétrie de rotation). Une symétrie peut également être produite par rapport à des dimères (ou plus) de structure différente. C'est le cas de l'hémoglobine, protéine tétramérique constituée de deux dimères symétriques eux-mêmes issus de l'association de deux sous-unités différentes notées α et β.

- Plusieurs types de symétrie ont été observés :
- Dans la **symétrie cyclique** (***Cn***), les sous-unités sont symétriques par rapport à un seul axe de rotation. La symétrie est notée C_2, C_3, …, C_n (symétries d'ordre 2, 3, …, n), le nombre en indice représentant le nombre de sous-unités constitutives de l'oligomère.

- Dans la **symétrie diédrique (*Dn*)**, l'axe de rotation d'ordre 2 est coupé par un axe de rotation d'ordre n. Les oligomères ont une symétrie notée D_2, D_3, …, D_n, le nombre en indice représentant la moitié du nombre de protomères constitutifs de la structure.
- Il existe également des oligomères présentant des symétries particulières faisant référence à des polyèdres réguliers (**symétrie de rotation d'un tétraèdre** (4 sous-unités), **d'un octaèdre** (8 sous-unités), **d'un icosaèdre** (20 sous-unités)).

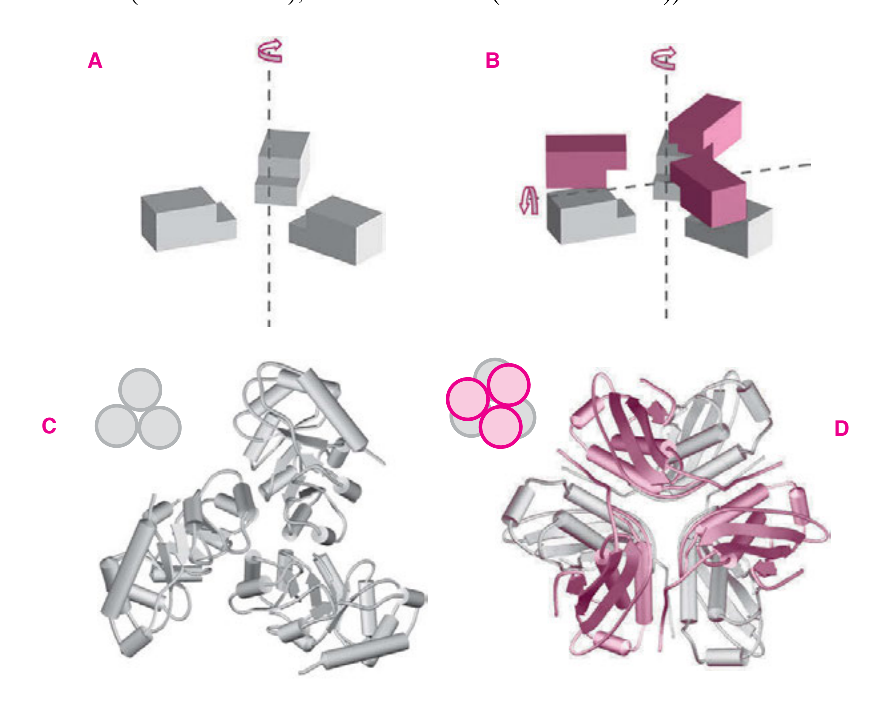


Illustration de deux symétries de rotation.
A : Symétrie cyclique C_3 ; B : Symérite diédrique D_3 ; C : KDGP Aldolase (2-Céto-3-désoxygluconate-6-phosphate aldolase), protéine à symétrie cyclique C_3 ; D : Protéine C de biosynthèse du cofacteur molybdène, protéine à symétrie diédrique D_3. Les axes de rotation sont représentés en pointillés.

44 Solubilité des protéines

Mots clés

Salting in, salting out, force ionique, pH isoélectrique

1. GÉNÉRALITÉS

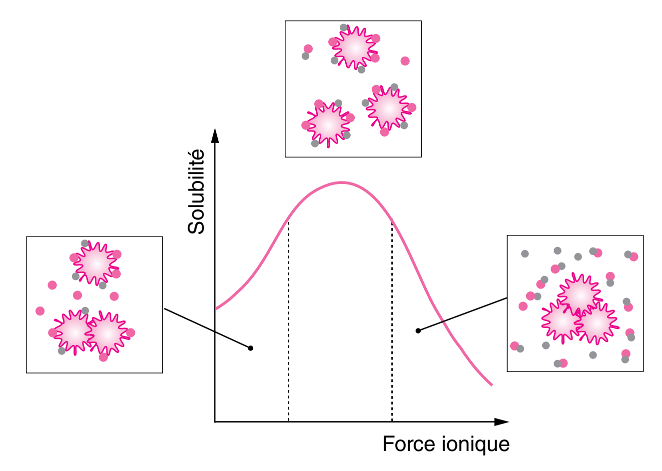
Parce qu'elles sont composées de résidus d'acides aminés aux caractéristiques différentes, les protéines ont une solubilité qui leur est spécifique et dépendante de la concentration en sels, des solvants organiques et du pH.

Sur la base de leur solubilité dans l'eau pure, on distingue deux classes de protéines qui sont les **albumines**, solubles dans l'eau pure, et les **globulines** qui nécessitent une certaine concentration saline pour être solubilisées.

2. INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN SELS

La **force ionique** qui correspond à la concentration en sels dissous dans une solution, a deux effets sur la solubilité des protéines.

- À faible force ionique, la solubilité d'une protéine augmente avec la concentration en sel. C'est le phénomène du « **salting in** » (solubilisation saline) lors duquel les ions ajoutés vont interagir avec les charges ioniques des chaines latérales des résidus de la protéine et former un écran qui empêche les interactions directes entre les molécules de protéines.



Influence de force ionique sur la solubilité (les disques rouges représentent les molécules d'eau, les disques gris, les ions).

- À force ionique élevée, la solubilité d'une protéine diminue avec la concentration en sel. C'est le phénomène du « **salting out** » (précipitation saline). Dans ce cas, les ions ajoutés « monopolisent » le solvant qui devient indisponible pour la protéine dissoute.

Il y a déshydratation du milieu, les molécules de protéines vont interagir entre elles et précipiter.

3. INFLUENCE DES SOLVANTS ORGANIQUES

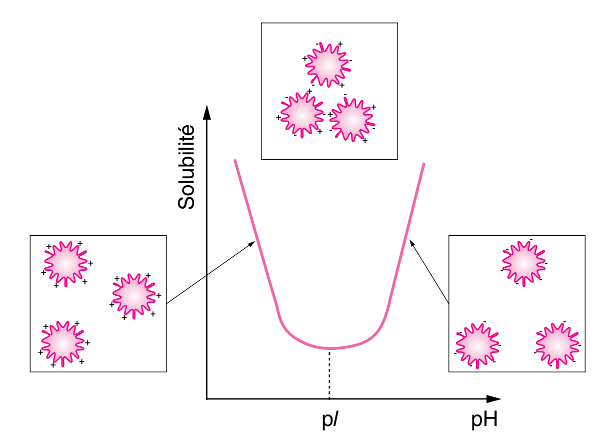
Les solvants organiques miscibles à l'eau tels que l'éthanol agissent en abaissant le **pouvoir de solvatation** du solvant pour les protéines dissoutes. Ce pouvoir de solvatation correspond à l'interaction des molécules de solvant (souvent de l'eau) avec la protéine. Les protéines vont alors interagir entre elles et précipiter.

4. INFLUENCE DU pH

Les protéines possèdent de nombreux groupements ionisables, principalement représentés par les chaînes latérales des résidus glutamate, aspartate, lysine, arginine et histidine (Fiche 34).

Chaque groupe ionisable possède un pK_a différent ; il existe une valeur de pH pour laquelle la charge électrique globale de la protéine est nulle. Ce pH est appelé **pH isoélectrique** ou **point isoélectrique (p*I*)** (voir également la Fiche 35).

À cette valeur de pH, les interactions entre les charges de surface sont favorisées, les protéines vont former des agrégats. Pour des valeurs de pH éloignées du pI, la protéine a une charge globale positive ou négative, les molécules de protéine vont donc se repousser mutuellement, ce qui favorise leur maintien en solution.



Influence du pH sur la solubilité.

45 Stabilité des protéines

Mots clés

Etat natif, état dénaturé, agents dénaturants, Tm

1. GÉNÉRALITÉS

L'activité d'une enzyme ou, plus généralement, la fonction biologique d'une protéine, est déterminée par sa structure tridimensionnelle (Fiches 40-43). Cette structure est stabilisée principalement par des interactions faibles, que ce soit à l'intérieur même de chacune des chaînes polypeptidiques, à l'interface entre sous-unités, ou au contact des protéines avec leur environnement, aqueux pour les protéines solubles, ou hydrophobe pour les protéines membranaires (Fiche 72). La consolidation de la conformation des protéines fait intervenir occasionnellement des liaisons covalentes, principalement les ponts disulfure entre des résidus cystéine (Fiches 8, 42).

Des facteurs physiques ou chimiques qui influencent ces interactions peuvent faire évoluer une protéine d'un état « **natif** » fonctionnel vers un état « **dénaturé** » non fonctionnel. De nombreux paramètres peuvent entrer en jeu, mais trois facteurs sont particulièrement importants : la **température,** le **pH**, et la présence éventuelle d'**agents dénaturants**.

2. EFFET DE LA TEMPÉRATURE

Dans leur ensemble, les protéines sont **thermosensibles** (ou **mésophiles**) : leur structure tridimensionnelle est déstabilisée lorsqu'on les soumet à des températures élevées (**dénaturation thermique**). L'effet de la température est lié à l'augmentation de l'agitation moléculaire qui provoque la rupture des liaisons faibles

Chaque protéine est caractérisée par une température, appelée Tm (« *melting temperature* ») pour laquelle 50 % des molécules sont dénaturées. Certains micro-organismes adaptés à des environnements chauds synthétisent des protéines **thermostables**, qui conservent leur structure et leur activité à des températures supérieures à 80 °C, voire plus. Un exemple concret de ce type de protéine est donné par l'ADN polymérase 1 (ou « Taq polymerase ») de la bactérie thermophile *Thermus aquaticus,* utilisée dans les réactions de polymérisation en chaîne (PCR).

Enzyme	Organisme	Tm (°C)
ADN polymérase 1	*Escherichia coli*	40
Albumine du sérum	Vache	65
Ovalbumine	Poule	71
ADN polymérase 1	*Thermus aquaticus*	98
Glutamate déshydrogénase	*Pyrococcus furiosus*	113

Un grand nombre de paramètres ont une influence sur la Tm. En règle générale, on estime qu'une valeur élevée de Tm est en relation avec une participation importante des liaisons H dans la stabilisation de la structure d'une protéine.

À l'opposé, certaines protéines oligomériques sont dénaturées à basse température et sont qualifiées de protéines **cryosensibles**.

3. EFFET DU PH

Des variations de pH modifient les charges électriques portées par les chaînes latérales ionisées (Fiche 8). On conçoit aisément que de fortes variations de pH peuvent dénaturer la protéine lorsque ces chaînes latérales participent à sa stabilisation. Ainsi, la plupart des protéines sont dénaturées pour des valeurs de pH inférieures à 5 (protonation des groupes carboxylate des résidus aspartate et glutamate) ou supérieures à 10 (déprotonation du groupe ε-NH_3^+ des résidus lysine, mais aussi de la fonction phénol des résidus tyrosine).

4. EFFET DES AGENTS DÉNATURANTS

Diverses molécules sont capables de dénaturer les protéines. Elles sont classées en trois grandes catégories en fonction de leur mode d'action. On trouve :

- Les agents chaotropiques comme l'**urée** ou le **chlorure de guanidinium**. Utilisés à des concentrations élevées (6 à 8 mol.L^{-1}), ils désorganisent la structure de l'eau, disloquent les liaisons hydrogène, affaiblissent les interactions hydrophobes et augmentent la solubilité de tous les groupements, polaires ou apolaires.

- Les **thiols** comme le **2-mercaptoéthanol** (ou β-mercaptoéthanol) ou le dithiothréitol (DTT).

Ces thiols réduisent les ponts disulfure formés entre des paires de résidus cystéine :

- Les **détergents** comme le **dodécylsulfate de sodium** (SDS, ou laurylsulfate de sodium). La chaîne carbonée du SDS s'associe avec les chaînes latérales apolaires (Leucine, Valine, Phénylalanine, etc.) et la partie ionisée (sulfonate chargé négativement) entre en contact avec le milieu aqueux. Ce détergent désorganise l'intérieur hydrophobe des protéines et donc déstabilise l'ensemble de la structure protéique.

46 Purification des protéines

Mots clés

Précipitation fractionnée, chromatographie, électrophorèse, dosage des protéines

1. CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

La purification d'une protéine s'effectue suite à divers processus, indépendants les uns des autres, basés sur les différentes propriétés physico-chimiques de la protéine considérée. À chaque étape, on tentera de conserver la protéine d'intérêt dans une partie de l'échantillon (une fraction) en éliminant les autres protéines dites contaminantes (dans une autre fraction de l'échantillon).

La purification est dite préparative quand la quantité de protéine désirée est élevée en fin de purification (production industrielle de protéines telles que l'insuline, etc.). Elle sera dite analytique quand la quantité de protéine désirée est faible en fin de purification (production au laboratoire pour les analyses biochimiques de la protéine).

Préalablement à la purification proprement dite, différentes questions stratégiques doivent être examinées afin d'optimiser le protocole :

- Le choix du matériel de départ. Ce choix doit tenir compte de divers critères tels que la disponibilité du matériel de départ et sa facilité d'obtention, sa richesse en protéine concernée. Avec l'explosion des techniques de biologie moléculaire, il est possible de faire exprimer (et sur-exprimer) pratiquement n'importe quel gène dans un organisme approprié (*E. coli*, levure, cellules eucaryotes). Cette approche permet d'obtenir de fortes quantités de la protéine désirée généralement modifiée (queue poly-histidine) pour être rapidement et facilement purifiable.
- Le choix de la technique de solubilisation. Bien souvent, les protéines sont intracellulaires ou enchassées dans les membranes. Dans le cas de protéines cellulaires, une lyse des cellules pourra être réalisée par choc osmotique ou mécaniquement par l'utilisation d'homogénéiseur, d'une presse de French ou d'un sonicateur. Si la protéine est membranaire, un fractionnement sub-cellulaire pourra être réalisé par ultracentrifugations différentielles, suivies d'une extraction de la protéine par traitement avec des solutions salines concentrées ou des détergents.
- Le choix de la méthode de stabilisation des protéines. La protéine est purifiée et stockée à 4 °C, dans une solution tampon pour maintenir le pH, à laquelle on ajoute éventuellement un inhibiteur irréversible de protéases (fluorure de phénylméthanesulfonyle ou PMSF) et/ou un agent bactéricide (azoture de sodium, NaN_3).
- La quantification spécifique de la protéine. La purification d'une protéine nécessite d'être capable de la déceler lors des différentes étapes de purification. Deux méthodes sont envisageables pour déceler une protéine. Si celle-ci est une enzyme par la mesure de son activité ; autrement, on devra détecter la protéine à l'aide de molécules qui la reconnaissent spécifiquement (anticorps, lectines, etc.).

2. TECHNIQUES DE DOSAGE DES PROTÉINES

Plusieurs techniques sont employées pour mesurer la quantité totale de protéine d'un mélange.

- Mesure de l'absorbance à 280 nm, basée sur l'absorption de la lumière par le tryptophane et la tyrosine. Cette méthode est très rapide, mais il faut l'utiliser avec discernement car les proportions de tyrosine et de tryptophane sont différentes d'une protéine à l'autre (certaines protéines sont dépourvues de tryptophane).
- Méthode du biuret basée sur la formation en milieu alcalin d'un complexe rouge entre les peptides possédant au moins 2 liaisons peptidiques et ses ions cuivre II. L'absorbance à 540 nm est proportionnelle à la quantité de protéine présente (Fiche 14).
- Méthode de **Bradford** basée sur l'adsorption du bleu de Coomassie G-250 sur les protéines en milieu méthanolique acide. La formation des complexes « protéine-G250 » provoque le glissement de la bande d'adsorption du G250, de 470 à 595 nm ; la solution, initialement brun-rouge prend une teinte bleue dont l'intensité augmente avec la concentration de protéines.

L'efficacité de la purification sera suivie en déterminant l'activité spécifique de la solution, qui correspond au quotient de l'activité enzymatique par la quantité totale de protéines présentes dans le mélange. Pour une enzyme pure, l'activité spécifique sera constante et maximum. Les propriétés physico-chimiques et les caractéristiques des protéines exploitées au cours de leur purification sont résumées dans le tableau suivant :

Propriété	Technique employée	Fiche
Solubilité	Précipitation fractionnée (*salting in - salting out*)	46
Charge électrique	Chromatographie par échange d'ions	47
Polarité	Chromatographie par interactions hydrophobes	47
Taille	Chromatographie par filtration sur gel ou chromatographie d'exclusrion	47
Affinité pour un ligand	Chromatographie d'affinité	47

47 Précipitation fractionnée et dialyse

Mots clés

Sulfate d'ammonium ; membrane semi-perméable ; diffusion passive

1. OBJECTIF

Décrire la première étape généralement abordée lors de la purification d'une protéine ainsi que l'étape qui lui fait suite, nécessaire à la poursuite de la purification.

2. PRÉCIPITATION FRACTIONNÉE AU SULFATE D'AMMONIUM

Généralement, cette technique est utilisée dans les premières étapes de la purification des protéines. En effet, elle est peu coûteuse et possède une capacité de fractionnement différentiel élevée. La précipitation des protéines par le sulfate d'ammonium est un cas particulier du phénomène de « salting out » (Fiche 44).

$[NH_4^+]_2 \quad [SO_4^{2-}]$

Formule du sulfate d'ammonium.

L'utilisation de ce sel est particulièrement intéressante pour plusieurs raisons :

- Le sulfate d'ammonium présente une très forte solubilité dans l'eau (744 g · L^{-1} à 20 °C).
- Le sulfate d'ammonium est constitué de deux ions (SO_4^{2-} et NH_4^+) classés, selon les **séries de Hofmeister** ou **séries lyotropes,** comme possédant une forte capacité de précipitation (*salting out*).

Capacité à la précipitation

(salting out)

$$PO_4^{3-} > SO_4^{2-} > COO^- > Cl^- > Br^- > NO_3^- > ClO_4^-$$

$$NH_4^+ > Rb^+ > K^+ > Na^+ > Cs^+ > Li^+ > Mg^{2+} > Ca^{2+}$$

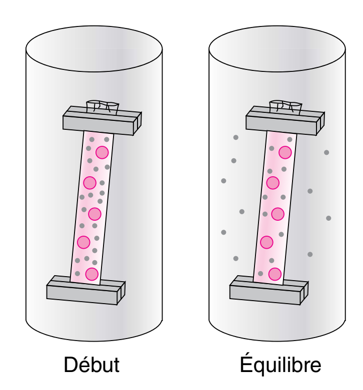
- En règle générale, le sulfate d'ammonium n'a pas d'effets négatifs sur l'activité des enzymes.

La procédure de purification consiste à soumettre l'extrait protéique à des concentrations croissantes en sulfate d'ammonium, à récupérer le précipité par centrifugation et à repérer la protéine d'intérêt par une technique appropriée (Fiche 46). La mise en évidence de la protéine d'intérêt nécessite d'éliminer préalablement le sulfate d'ammonium. La dialyse permet cette opération.

3. DIALYSE

Cette technique consiste à séparer les protéines des petites molécules (sulfate d'ammonium par exemple), sur la base de leur taille et de deur différence de concentration de part et d'autre d'une membrane semi-perméable de type cellulose, pourvue de pores calibrés ; habituellement, les membranes se présentent sous forme de boyaux de cellulose dont les pores laissent diffuser les molécules dont la masse moléculaire est inférieure à 8 000 Da. La solution est introduite dans un boyau fermé à ses deux extrémités au moyen de pinces (figure ci-dessous) ; l'ensemble est alors immergé dans un grand volume d'eau distillée (ou un tampon approprié - composition et pH compatibles avec la stabilité de l'enzyme ou de la protéine étudiées).

Les petites molécules et les ions vont diffuser à l'extérieur du sac de dialyse jusqu'à équilibre. La solution extérieure est appelée dialysat et le contenu du sac rétentat. Le dialysat est éliminé et le sac placé à nouveau dans la même solution exempte des petites molécules. Cette opération sera répétée ainsi jusqu'à élimination complète des petites molécules dans le rétentat.



Dialyse. Au cours de la dialyse, les petites molécules (disques gris) diffusent librement au travers d'une membrane semiperméable jusqu'à un équilibre. Les protéines (disques roses) restent bloquées dans le sac de dialyse.

48 Les chromatographies

Mots clés

Gel perméation, chromatographies d'affinité, d'échange d'ion, hydrophobe

1. GÉNÉRALITÉS

Le terme chromatographie, proposé par Mikhail Tswett en 1903, désigne un ensemble de techniques de séparation qui reposent sur l'affinité différentielle des molécules d'un mélange pour une phase stationnaire ou matrice, solide et une phase mobile, liquide ou gazeuse.

Dans le cas des protéines, le mélange est déposé au sommet de la phase stationnaire contenue dans une colonne. La phase mobile, un éluant, traverse la phase stationnaire et entraîne progressivement les molécules vers le bas de la colonne où l'effluent est collecté en différentes fractions qui sont ensuite analysées.

Selon le type de matrice, les molécules de protéines sont retenues et retardées par la colonne en fonction de paramètres physico-chimiques variés : taille, charge électrique, hydrophobicité de la surface ou affinité pour des ligands déterminés.

2. CHROMATOGRAPHIE PAR FILTRATION SUR GEL

Cette technique chromatographique est également nommée **chromatographie par exclusion** ou **chromatographie par tamisage moléculaire**. Dans cette technique, les molécules sont séparées selon leur taille et leur forme. L'échantillon est déposé au sommet d'une colonne de gel constitué de billes de porosité définie. Ces billes sont constituées de **dextran** (polymère de glucose), d'**agarose** (polymère de dérivés du galactose) ou de **polyacrylamide**. Les molécules de petite taille (petites protéines et polypeptides) pénètrent dans les billes et sont donc retardées, alors que les molécules de taille supérieure à celle des pores ne pénètrent pas dans les billes et traversent donc plus rapidement la colonne.

3. CHROMATOGRAPHIE PAR ÉCHANGE D'IONS

Dans cette chromatographie, la matrice (cellulose, polystyrène, agarose, dextran) contient des groupes ionisés qui fixent des ions de charge opposée (A^+, B^-) présents dans la solution ; ces ions pourront être échangés avec des protéines. On distingue les échangeurs d'anions (matrice R chargée positivement) et les échangeurs de cations (matrice chargée négativement) :

$$\text{Échangeurs d'anions : } R^+B^- + \mathit{Prot}^- \rightleftharpoons R^+\mathit{Prot}^- + B^-$$
$$\text{Échangeurs de cations : } R^-A^+ + \mathit{Prot}+ \rightleftharpoons R^-\mathit{Prot}+ + A^+$$

Les protéines se fixent à la matrice en fonction de leur affinité pour les groupes ionisés. La colonne est ensuite lavée avec un tampon (tampon d'élution), qui entraine en premier lieu les protéines les plus faiblement liées à l'échangeur. Les protéines les plus fortement liées seront libérées en dernier ou resteront fixées sur la matrice. On réussit en général à libérer l'ensemble des protéines fixées en faisant varier le pH du tampon d'élution ou en augmentant progressivement sa force ionique.

4. CHROMATOGRAPHIE PAR INTERACTIONS HYDROPHOBES

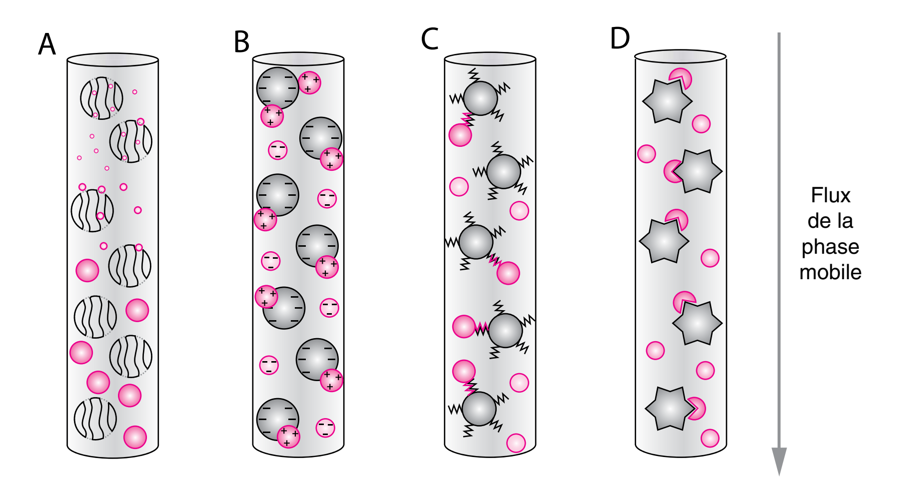
Cette méthode met à profit l'existence de zones hydrophobes discrètes à la surface des protéines. La matrice contenue dans la colonne contient des groupes apolaires (groupes phényl) qui peuvent retenir les protéines en s'associant à leurs régions hydrophobes.

Cette interaction est d'autant plus forte que la force ionique est élevée. Aussi, et à l'inverse de la chromatographie d'échange d'ions, la colonne hydrophobe est éluée par un tampon de force ionique décroissante, ce qui a pour effet d'affaiblir progressivement l'interaction hydrophobe entre les protéines et la matrice.

En principe, les protéines contenant peu de zones hydrophobes à leur périphérie sont éluées en premier, les protéines les plus hydrophobes sont éluées en dernier.

5. CHROMATOGRAPHIE PAR AFFINITÉ

Dans cette technique, les protéines sont séparées en fonction de leur affinité pour un groupement (analogue de substrat, anticorps spécifique, lectine, etc.) greffé sur la matrice. La protéine d'intérêt est éluée de la colonne par déplacement avec un analogue de la structure ou molécule reconnue par le groupement lié.



(A) Chromatographie par filtration sur gel. Les protéines (disques roses) de taille supérieure au diamètre des pores ne sont pas retardées par la matrice (disques gris)

(B) Chromatographie par échange d'ions. Les protéines (disques roses) chargées positivement sont retenues par la matrice (disques gris) chargée négativement.

(C) Chromatographie par interactions hydrophobes. Les protéines (disques roses) les plus hydrophobes sont retenues par la matrice (disques gris), elle-même hydrophobe.

(D) Chromatographie par affinité. Les protéines (disques roses) les plus affines sont retenues par la matrice (disques gris) sur laquelle est greffé le ligand spécifique de la protéine d'intérêt.

49 Catalyse enzymatique

Mots clés

Catalyse, enzymes, coenzymes, énergie d'activation, machine outil, complexe enzyme substrat

1. CONSTITUTION DES ENZYMES

Les réactions qui se déroulent dans une cellule sont toutes catalysées par des enzymes. Certaines réactions, et non des moindres, sont catalysées par des ARN, les **ribozymes** (voir le dernier paragraphe de cette fiche), mais l'immense majorité des enzymes sont constituées de protéines.

- **Masse moléculaire des enzymes**

Ces protéines ont des masses moléculaires comprises entre 10 000 Da (ribonucléase A, une seule chaîne polypeptidique : 13 700 Da) et plusieurs millions de Da ; il s'agit alors de complexes multienzymatiques comme par exemple le complexe de la pyruvate déshydrogénase (PDC) qui est constitué de 260 chaînes polypeptidiques pour une masse moléculaire totale de 9 500 kDa.

- **Cofacteurs / Coenzymes /Groupements prosthétiques**

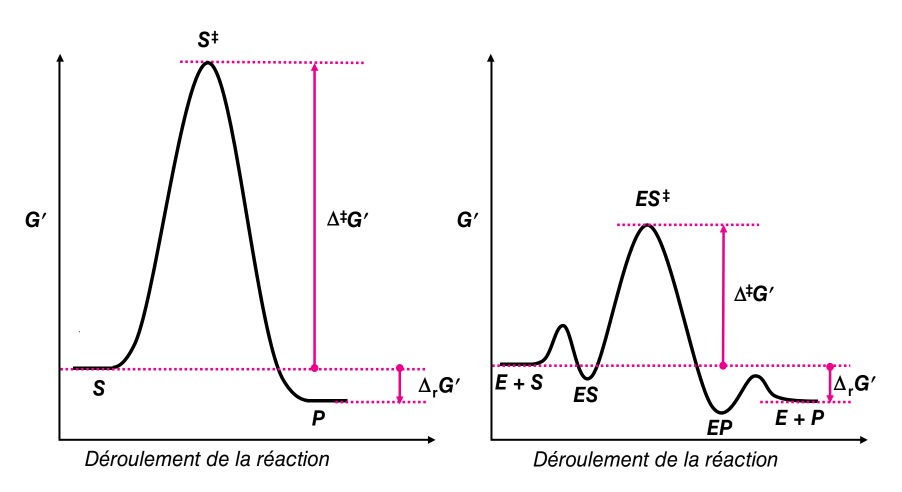
Très souvent les enzymes sont constituées d'une protéine associée à une espèce chimique de petite taille et de nature différente, un **cofacteur**. La différence essentielle entre la protéine et le cofacteur réside dans leur stabilité thermique : le cofacteur est thermostable, alors que la protéine est thermolabile. Les cofacteurs sont très variés. Il peut s'agir d'**ions métalliques**, ou de **coenzymes**, molécules organiques le plus souvent dérivées de vitamines (Fiches 29, 30, 50 et 51).
Lorsque le cofacteur est fortement lié à la protéine (par exemple par covalence) on le qualifie de **groupement prosthétique**. C'est par exemple le cas des noyaux fer-tétrapyrroles, parties intégrantes des **cytochromes**. A l'opposé, les coenzymes nicotiniques, NAD^+ et $NADP^+$ (Fiche 29) passent alternativement de l'état oxydé à l'état réduit en faisant la navette d'une enzyme à l'autre. Pour cette raison, on les qualifie de **coenzymes mobiles**.

2. CARACTÈRES COMMUNS AVEC LA CATALYSE CHIMIQUE

- **Les catalyseurs ne sont pas modifiés par les réactions qu'ils catalysent.**
  Les catalyseurs entrent en contact avec les réactifs (en biochimie, les substrats) ; ils participent activement aux réactions qu'ils catalysent, mais on les retrouve intacts une fois la réaction terminée, tels qu'ils étaient au début.
- **Les catalyseurs augmentent les vitesses car ils diminuent l'enthalpie libre d'activation** ($\Delta^{\ddagger}G'$).
  Toutefois, ils ne modifient en rien les équilibres thermodynamiques entre les réactifs (substrats) et les produits ; l'**enthalpie libre de réaction** $\Delta_r G'$ reste inchangée en présence de catalyseur.

• **L'enthalpie libre d'activation mesure la différence entre l'enthalpie libre de l'état de transition et celle du réactif.**

L'état de transition désigne un intermédiaire dans lequel on reconnaît une liaison du réactif sur le point de se rompre et une liaison du produit sur le point de se former. Il s'agit d'un état passager, très fugace, en théorie impossible à isoler et dont l'enthalpie libre est plus élevée que celle du réactif et plus élevée que celle du produit. L'état de transition se situe au sommet de la **barrière énergétique** qui doit être franchie pour que se forme le produit de la réaction. Dans une réaction non catalysée, l'état de transition est constitué du réactif (ou des réactifs, ou du substrat *S* en l'absence d'enzyme) dans une configuration particulière ; dans la catalyse enzymatique, il s'agit d'une configuration particulière du complexe enzyme-substrat *ES*.



Influence d'une enzyme sur l'enthalpie libre d'activation $\Delta^{‡}G'$.
À gauche, réaction non catalysée, à droite, réaction catalysée par une enzyme. L'enzyme diminue $\Delta^{‡}G'$ l'enthalpie libre d'activation (ou barrière énergétique) mais l'enthalpie libre réactionnelle Δ_rG' reste inchangée. On notera que la formation du complexe ES est caractérisée par une modeste énergie d'activation – et de même la dissociation du complexe EP.

• **La vitesse d'une réaction ne dépend que du rapport [$ES^{‡}$]/[S].**

C'est ce que suppose la théorie proposée par **Henry Eyring** (1935). On admet l'existence d'un équilibre entre le réactif *R* (ou le substrat *S*) et les états de transition respectifs $R^{‡}$ et $ES^{‡}$, soit, pour ce dernier :

$$K^{‡} = \frac{[ES^{‡}]}{[S]} \tag{1}$$

Cette constante d'équilibre d'activation correspond à l'enthalpie libre d'activation $\Delta^{‡}G'$:

$$\Delta^{‡}G' = -RTLog\ K^{‡} = -RTLog\frac{[ES^{‡}]}{[S]} \tag{2}$$

D'où la concentration de l'état de transition :

$$[ES^{‡}] = [S]\exp\frac{-\Delta^{‡}G'}{RT} \tag{3}$$

Dans le cadre de cette théorie, la vitesse de la réaction est proportionnelle à la concentration de l'état de transition $[ES^{\ddagger}]$, et à la constante de vitesse $k^{\ddagger}$, constante de vitesse d'une réaction d'ordre 1, dont la dimension est donc l'inverse d'un temps (seconde^{-1}) :

$$v = k^{\ddagger}[ES^{\ddagger}] = k^{\ddagger}[S]\exp\frac{-\Delta^{\ddagger}G'}{RT} \qquad (4)$$

La théorie d'Eyring prévoit que la constante de vitesse $k^{\ddagger}$ est universelle : elle possède la même valeur pour toutes les réactions chimiques (d'où l'autre nom de la théorie d'Eyring : théorie des vitesses absolues) :

$$k^{\ddagger} = \frac{k_B T}{h} \qquad (5)$$

k_B : constante de Boltzmann, T : température absolue, h : constante de Planck ;
$k^{\ddagger}$= 6,2 10^{12} s^{-1} à 25 °C.

En résumé, les enzymes et les catalyseurs chimiques augmentent la vitesse des réactions car ils augmentent la proportion de réactif (ou de complexe enzyme-substrat) présent sous la forme de l'état de transition. Si $[ES^{\ddagger}]/[S]$ augmente, $K^{\ddagger}$ augmente (relation 1), $\Delta^{\ddagger}G'$ diminue (relation 2), et v augmente (relation 4).

- **Corollaire : l'état de transition est extrêmement fugace.**

  La constante de vitesse universelle $k^{\ddagger}$ est égale à 6,2 10^{12} s^{-1}, ce qui correspond à un temps de demi-vie de l'état de transition de 1,12 10^{-13} seconde : difficile à observer, probablement impossible à isoler.

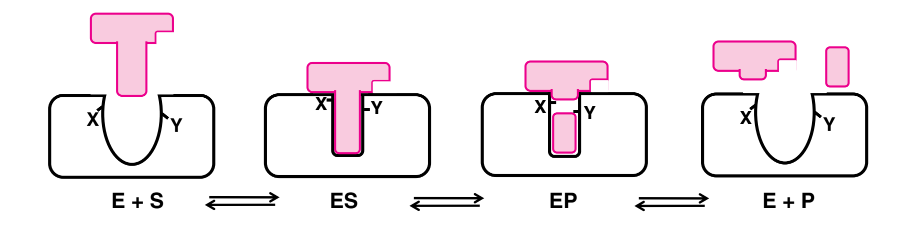
3. CARACTÈRES PARTICULIERS DES ENZYMES

- **Les enzymes reconnaissent spécifiquement leurs substrats.**

  Une enzyme particulière fixe spécifiquement un substrat particulier. L'enzyme possède un site spécifique - le site de fixation du substrat - dont la structure est complémentaire du substrat. L'enzyme (E) et le substrat (S, en couleur dans la figure ci-dessous) forment le complexe enzyme-substrat (ES) stabilisé par des liaisons faibles.

- **Le substrat modifie localement la conformation de l'enzyme.**

  Au cours de sa fixation, le substrat induit localement des changements de conformation de l'enzyme ; ces modifications renforcent la stabilité du complexe ES et orientent les groupements réactifs de l'enzyme vers la liaison covalente cible de la molécule de substrat. On qualifie ce concept d'**ajustement induit**.



- **Les enzymes sont des machines-outils miniatures.**

  Au cours de la réaction, le complexe enzyme-substrat (*ES*) se transforme en complexe enzyme-produit (*EP*). C'est un réarrangement interne, une réaction « intramoléculaire » puisque le substrat ne quitte pas l'enzyme et subit l'action concertée des groupements catalytiques ici, les groupes X et Y. L'enzyme fonctionne à la manière d'une **machine-outil** dont les outils d'usinage agissent d'une manière programmée sur la pièce à transformer.

- **Les réactions enzymatiques ne forment aucun produit secondaire.**

  Contrairement à la plupart des réactions de chimie organique, les enzymes ne fournissent qu'un seul produit à partir d'un substrat donné. C'est la conséquence de la stricte stéréospécificité de la réaction catalysée.

  Par exemple, la réduction du pyruvate par le NADH, catalysée par la lactate déshydrogénase du muscle, produit du L-lactate (et du NAD^+), alors que la réduction chimique du pyruvate par le borohydrure de sodium conduit au mélange équimoléculaire de L-lactate et de D-lactate.

- **Les enzymes possèdent une affinité remarquable pour l'état de transition des réactions qu'elles catalysent.**

  C'est la raison pour laquelle les enzymes sont aussi performantes. Même si l'on n'arrive pas à isoler les états de transition, on s'en fait une idée, en déterminant la structure à trois dimensions des enzymes et des complexes enzyme-inhibiteurs (par cristallographie ou par résonance magnétique nucléaire).

  Pour preuve, des analogues de l'état de transition se révèlent être des inhibiteurs très puissants des enzymes correspondantes. Le **Tamiflu**® est un analogue de l'état de transition de l'hydrolyse de l'**acide neuraminique**, catalysée par la **neuraminidase** des virus A et B de la grippe ; la protéase du VIH est très fortement inhibée par des analogues de l'état de transition de la réaction de protéolyse, comme le **ritonavir** ou le **saquinavir**.

4. RIBOZYMES

Il s'agit de molécules d'ARN (Fiche 78) possédant des propriétés catalytiques. Chez toutes les espèces vivantes, la **synthèse des protéines** se déroule sur les **ribosomes**, et c'est un ARN qui catalyse la formation de la liaison peptidique.

L'ARN de la ribonucléase P intervient dans la maturation des ARNt.

D'autres ARN sont doués d'activités autocatalytiques, et assurent leur propre fragmentation (réaction d'épissage) ; en toute rigueur on ne peut les qualifier d'enzymes, car ils se retrouvent modifiés à l'issue de la réaction, et donc ne fonctionnent qu'une seule fois.

50 Vitamines et coenzymes : vitamines hydrosolubles

Mots clés
Vitamines hydrosolubles, vitamines liposolubles.

1. DÉFINITION

Les vitamines sont des molécules organiques indispensables que l'organisme est incapable de synthétiser ; il faut donc trouver ces molécules dans l'alimentation. Certaines vitamines, comme la vitamine C, participent telles quelles à des réactions enzymatiques, mais la grande majorité de ces molécules subissent des transformations avant d'être utilisées finalement comme coenzymes.

On sépare les vitamines en deux groupes en fonction leur solubilité : les vitamines solubles dans l'eau (vitamines hydrosolubles : groupe B, vitamine C) et les vitamines solubles dans les huiles et les graisses (vitamines liposolubles : toutes les autres vitamines).

Cette fiche et la suivante rassemblent les vitamines et les coenzymes qui éventuellement en dérivent ; seront également indiquées les réactions auxquelles ces molécules participent.

2. VITAMINE B1

Il s'agit de la première vitamine découverte, isolée de l'enveloppe des grains de riz en 1913. Également appelée **thiamine** (ou **aneurine**), elle se compose d'un noyau pyrimidine et d'un noyau thiazole. La phosphorylation de la thiamine conduit au coenzyme, la **thiamine diphosphate** ou TPP.

Thiamine

Thiamine diphosphate

La thiamine diphosphate est le coenzyme des décarboxylases d'acides α-cétoniques, comme la pyruvate décarboxylase (Fiches 80, 82) et l'α-cétoglutarate décarboxylase (Fiche 82). C'est également le coenzyme de la transcétolase, enzyme de la voie des pentoses phosphate. Au cours des réactions, les carbones des fonctions cétone forment une liaison covalente avec le carbone 2 du noyau thiazole.

3. VITAMINE B2

La vitamine B2 ou **riboflavine** est phosphorylée pour donner le **flavine mononucléotide** (FMN), molécule qui se retrouve également dans le **flavine adénine dinucléotide** (FAD) (Fiche 30). Ces deux coenzymes équipent les déshydrogénases flaviniques, responsables notamment de la formation de doubles liaisons >C=C<, comme la succinate

déshydrogénase ou l'acyl-CoA déshydrogénase. La déshydrogénation du NADH au niveau de la chaîne respiratoire est assurée par une enzyme à FMN (complexe I).

4. VITAMINE B3

Également nommée vitamine PP (pour *P*révention du *P*ellagre), cette vitamine est représentée soit par l'**acide nicotinique** soit par l'amide correspondante.

Acide nicotinique

Nicotinamide

Ce groupe est incorporé dans un ribonucéotide, puis se retrouve dans le NAD^+ ou dans le $NADP^+$ (Fiche 29). Ces deux coenzymes participent à de nombreuses réactions d'oxydo-réduction, notamment dans la conversion de fonctions alcool en fonctions carbonyle.

5. VITAMINE B5

Cette vitamine se retrouve dans tous les aliments, sous forme libre ou combinée. Il s'agit de l'**acide pantothénique**, constituant du **coenzyme A** ;

Acide pantothénique

Coenzyme A

β-Mercaptoéthylamine *Phosphopantéthéine* *Adénosine 3′ 5′ bisphosphate*

La fonction thiol de la β-mercaptoéthylamine est la fonction active du coenzyme A. Le coenzyme A existe essentiellement sous forme de thioester. Produit du catabolisme des sucres, des graisses et des protéines, premier substrat du cycle tricarboxylique et précurseur de nombreuses voies de biosynthèse, l'acétyl-coenzyme A (acétyl-CoA) est sans aucun doute l'intermédiaire le plus important du métabolisme cellulaire (Fiche 81).

6. VITAMINE B6

Il s'agit en fait de trois molécules apparentées dont les pouvoirs vitaminiques sont identiques : la **pyridoxine** (PN), le **pyridoxal** (PAL) et la **pyridoxamine** (PAM). La fonction alcool en 5 est phosphorylée pour donner la **pyridoxine phosphate** (PNP), le **pyridoxal phosphate** (PALP) et la **pyridoxamine phosphate** (PAMP).

Pyridoxine *Pyridoxal* *Pyridoxamine*

Pyridoxine phosphate *Pyridoxal phosphate* *Pyridoxamine phosphate*

L'oxydation enzymatique de la fonction alcool en 4 de la pyridoxine phosphate ou de la fonction amine en 4 de la pyridoxamine phosphate conduit au pyridoxal phosphate, coenzyme dont la réactivité réside dans la fonction aldéhyde. À pH neutre l'azote 1 du cycle est protoné, et la charge positive se répartit sur l'ensemble des électrons délocalisés du cycle pyridinique.

Le pyridoxal phosphate est le coenzyme typique des réactions qui modifient les substituants du carbone alpha des amino-acides : décarboxylation (histidine décarboxylase, Fiche 37), transaminations (Glutamate oxaloacétate transaminase, Fiche 36).

7. VITAMINE B8

Également appelée vitamine H, il s'agit de la molécule de **biotine**.

Biotine

Biotine en liaison amide
avec un résidu lysyl (carboxylase)

La **biotine** est réunie aux enzymes (carboxylases) par une liaison amide avec la fonction ε amine d'un résidu lysine (la biotine est donc un groupement prosthétique). La fixation d'un groupe – COO^- sur l'azote 1′ de la biotine est une étape intermédiaire des réactions de carboxylation.

8. VITAMINE B9

Il s'agit du **folate** (**acide folique**) ou ptéroylglutamate.

Acide folique = Acide ptéroylglutamique

Acide ptéroïque

6-Méthylptéridine — *Acide p-aminobenzoïque* — *Acide glutamique*

La forme active est le **tétrahydrofolate** (THF), obtenu par réduction du noyau ptéridine (atomes 5, 6, 7 et 8). Le THF intervient dans le transfert d'unités à 1 atome de carbone que l'on trouve fixées d'une manière transitoire aux atomes d'azote 5 ou 10, ou à ces deux atomes en même temps, comme dans le N^5,N^{10} méthylène tétrahydrofolate.

Tétrahydrofolate — N^5,N^{10} méthylène Tétrahydrofolate

Les dérivés des folates interviennent dans la synthèse des purines (Fiches 75, 76), de la thymine (Fiche 78) et de la méthionine.

9. VITAMINE B12

La vitamine B12 ou **cobalamine** est constituée de quatre noyaux, dérivés du pyrrole (numérotés 1 à 4 dans la figure ci-dessous) dont les atomes d'azote sont liés à l'ion cobalt central (Co^+, lié par **coordination** aux trois premiers noyaux, et par covalence au quatrième). L'ion cobalt est également relié par coordination à un noyau diméthylbenzimidazole (numéroté 5).

La **cyanocobalamine** (A) est le dérivé de vitamine B12 le plus souvent administré ; la présence du cyanure en liaison covalente (numéro 6) avec le cobalt est la conséquence de la dernière étape de purification de la vitamine extraite de bactéries. Dans l'alimentation comme dans l'organisme, la cobalamine se présente sous la forme de ses deux coenzymes, la **méthylcobalamine** (B) et la **5'-désoxyadénosylcobalamine** (ou **cobamamide**). (C) Le premier coenzyme intervient notamment dans la synthèse de la méthionine ; la cobamamide est le coenzyme des mutases qui catalysent la transposition d'un groupe méthyl à l'intérieur des chaines carbonées, par exemple la méthylmalonyl-CoA mutase.

10. VITAMINE C

L'**acide L-ascorbique** ou vitamine C est un métabolite dérivé du glucose que la majorité des mammifères est en mesure de synthétiser. Les primates (et le cochon d'Inde) font exception et doivent trouver environ 60 mg d'acide L-ascorbique dans leur alimentation quotidienne.

Acide L-ascorbique → Acide L-déshydroascorbique + $2H^+$ + $2\,e^-$

Les réactions les plus importantes auxquelles participe l'acide ascorbique sont catalysées par des hydroxylases, principalement la proline hydroxylase et la lysine hydroxylase. Il s'agit d'enzymes dont l'action est indispensable à la maturation des fibrilles de collagène, par la transformation de résidus proline et lysine respectivement en hydroxyproline et hydroxylysine.

Le scorbut est essentiellement la conséquence d'une mauvaise maturation du collagène, suite à une carence en vitamine C (d'où le nom de l'acide ascorbique).

11. BESOINS QUOTIDIENS EN VITAMINES

Le tableau suivant indique ce qu'il est souhaitable de trouver dans l'alimentation quotidienne, du moins pour un homme de corpulence moyenne (70 kg). Il est bien sûr évident qu'il s'agit de valeurs approchées car les besoins précis pour une vitamine donnée, ne sont pas les mêmes d'un individu à l'autre ; de plus, les besoins seront différents en fonction du mode de vie et de l'état physiologique : activités sportives, activité professionnelle, sédentarité, grossesse, allaitement, état de santé, traitement médical, etc., le nombre de variables est très élevé.

On connait néanmoins l'influence de certains facteurs comme le tabac ou l'alcool sur le devenir des vitamines dans l'organisme : le tabagisme détruit la vitamine C et la consommation d'alcool inhibe fortement l'absorption de la vitamine B1.

Vitamine	Besoins quotidiens	Vitamine	Besoins quotidiens	Vitamine	Besoins quotidiens
Vitamines hydrosolubles		B6	2 mg	Vitamines liposolubles	
B1	1,5 mg	B8	100 µg	A	0,7 µg
B2	1,5 mg	B9	150 µg	D	5 µg
B3	20 mg	B12	2 µg	E	15 mg
B5	2 mg	C	60 mg	K	80 µg

51 Vitamines et coenzymes : vitamines liposolubles

Mots clés

Vitamines A, D, E, K

1. PROPRIÉTÉS GÉNÉRALES

Cette famille comprend les vitamines A, D, E et K, solubles dans les huiles et les graisses. Ces composés présentent plusieurs points communs : ils sont globalement apolaires, électriquement neutres, et dérivent tous de **composés isopréniques**.

2. VITAMINE A

Le **rétinol**, vitamine A, est le précurseur de deux molécules actives, le **rétinal** et l'**acide rétinoïque**.

Rétinol

Rétinal

Acide rétinoïque

Le rétinal, l'aldéhyde dérivé du rétinol (*ol* : alcool ; *al* : aldéhyde) est le groupement prosthétique des rhodopsines des cellules en cônes et des cellules en bâtonnets de la rétine. L'acide rétinoïque est un facteur de croissance des cellules épithéliales ; de plus, c'est une hormone dont dépend le développement de l'embryon.

3. VITAMINE D

La vitamine D ou **cholécalciférol** (D3) et le calcitriol, l'hormone qui en dérive, sont décrits dans la fiche 70.

4. VITAMINE E

On doit parler de la famille des vitamines E, qui comprend les groupes des **tocophérols** et des **tocotriénols**. L'α-tocophérol, la vitamine la plus active du premier groupe est un antioxydant ; il inhibe la formation des **espèces réactives de l'oxygène** (ERO) et prévient la peroxydation des acides gras poly-insaturés.

α-tocophérol

α-tocotriénol

Les tocotriénols sont des molécules voisines des tocophérols dont ils se distinguent par la présence de trois doubles liaisons dans la chaîne isoprénique (d'où leur nom, toco*triénols*), ce qui leur confère une solubilité accrue dans les milieux apolaires et augmente leur pouvoir protecteur des acides gras polyinsaturés.

5. VITAMINE K

La famille des vitamines K regroupe des molécules chimiquement voisines qui sont constituées d'un noyau **naphtoquinone** et d'une **chaîne polyisoprénique**. Dans la vitamine K1, ou **phylloquinone**, la chaîne isoprénique comprend une double liaison alors qu'elle en contient autant que d'unités isoprène dans la vitamine K2, la **ménaquinone.**

Phylloquinone (vitamine K1)

Ménaquinone (vitamine K2)

La carence en vitamine K provoque des hémorragies, d'où le nom de la vitamine (K pour l'allemand *koagulation*).

Les vitamines K sont les précurseurs de coenzymes de γ-glutamyl carboxylases, enzymes nécessaires à la modification post-traductionnelle d'un groupe de protéines intervenant dans la coagulation du sang (prothrombine, facteur de coagulation VII, IX, X). Les résidus γ-carboxyl-glutamate permettent à ces protéines de complexer très fortement l'ion Ca^{++}. Une fois ces complexes formés, ces protéines se fixent aux membranes des plaquettes sanguines et des cellules endothéliales et participent activement au processus de coagulation.

52 Classification des enzymes

Mots clés

Oxydoréductases, transférases, hydrolases, lyases, isomérases, ligases

1. NOMENCLATURE DES ENZYMES

Le catalogue publié par la commission chargée de la classification des enzymes (Enzyme Commission) contient environ 4 000 enzymes classées en fonction des réactions qu'elles catalysent. Chaque enzyme, en fait, chaque réaction particulière, est reconnue par un code constitué des initiales E.C. suivies de quatre nombres :

E.C.a.b.c.d

Les nombres de ce code représentent successivement :

- a : la classe à laquelle appartient la réaction (de 1 à 6)
- b : la sous-classe,
- c : la sous-sous classe,
- d : le n° d'ordre de cette réaction dans la sous-sous-classe considérée.

2. CLASSE 1 : OXYDO-RÉDUCTASES

Il s'agit de réactions d'oxydation ou de réduction d'un substrat, au moyen d'un coenzyme, ou d'un second substrat comme l'oxygène. Par exemple, E.C.1.1.1.1 est le code de l'alcool déshydrogénase qui catalyse la réaction :

$$R{-}CH(OH){-}R' + NAD^+ \rightleftharpoons R{-}C(O){-}R' + NADH + H^+$$

Cette réaction consiste dans l'oxydation d'une fonction alcool primaire ou secondaire (sous-classe 1) ; l'accepteur d'électrons est le NAD^+ (sous-sous classe 1).

3. CLASSE 2 : TRANSFÉRASES

Ces enzymes catalysent le transfert d'un atome ou d'un groupe d'atomes d'une molécule (le donneur) vers une autre molécule (l'accepteur). L'hexokinase reçoit le code E.C. 2.7.1.1 :

$$\text{Hexose} + \text{ATP} \longrightarrow \text{Hexose-6-phosphate} + \text{ADP}$$

Cette enzyme transfère le groupe phosphate (sous-classe 7) sur une fonction alcool (sous-sous classe 1), et cette réaction est la première de la liste. En général, les hexokinases phosphorylent tous les hexoses, sans distinction ; certaines hexokinases se révèlent très spécifiques, et on leur attribue alors un n° de code différent, comme la glucokinase, spécifique du glucose : E.C.2.7.1.2.

4. CLASSE 3 : HYDROLASES

Comme leur nom l'indique, il s'agit d'enzymes catalysant des réactions d'hydrolyse, qui consistent dans la rupture d'une liaison covalente à l'aide d'une molécule d'eau. La β-fructosidase, également appelée invertase, E.C.3.2.1.1, catalyse l'hydrolyse du saccharose :

$$\text{Saccharose} + H_2O \longrightarrow \text{Glucose} + \text{Fructose}$$

Cette enzyme est une glycosidase (sous-classe 2) qui agit sur une liaison *O*-glycosidique (sous-sous classe 1), et c'est la première de cette liste.

5. CLASSE 4 : LYASES

Les lyases sont des enzymes qui catalysent la coupure d'une liaison entre deux atomes sans l'intervention d'une molécule d'eau (contrairement aux hydrolases) ou d'un oxydant (contrairement à certaines oxydases). Les décarboxylases font partie de cette classe d'enzymes, par exemple l'histidine décarboxylase, E.C.4.1.1.22 :

$$\text{L-Histidine} \longrightarrow \text{Histamine} + CO_2$$

Cette réaction, irréversible, fait intervenir le pyridoxal phosphate comme cofacteur (Fiche 49). Certaines lyases catalysent des réactions dont l'équilibre est en faveur du substrat ; elles peuvent donc catalyser la formation de liaisons covalentes, et on leur donne parfois le nom de synthases. Il faut éviter de confondre ces lyases avec les ligases (classe 6) dont l'action catalytique fait toujours intervenir une molécule de nucléoside triphosphate (ATP ou autre).

6. CLASSE 5 : ISOMÉRASES

Les isomérases modifient l'arrangement des atomes dans une même molécule. Le substrat et le produit auront la même formule brute, mais se distingueront l'un de l'autre par leur formule développée. Par exemple, la phosphoglucomutase, E.C.5.4.2.2, transfère réversiblement le groupe phosphate du glucose-1-phosphate sur la fonction alcool en 6 :

$$\text{Glucose-1-phosphate} \rightleftharpoons \text{Glucose-6-phosphate}$$

7. CLASSE 6 : LIGASES

Les ligases catalysent la réunion de deux molécules par une liaison covalente en utilisant l'énergie d'une molécule d'ATP ou une molécule apparentée (nucléoside triphosphate). La pyruvate carboxylase, E.C. 6.4.1.1, utilise le bicarbonate (HCO_3^-) comme deuxième substrat et la biotine comme groupement prosthétique (Fiche 50) :

$$\text{Pyruvate} + HCO_3^- + \text{ATP} \longrightarrow \text{Oxaloacétate} + \text{ADP} + \text{Pi}$$

53 Cinétique enzymatique : mesure des vitesses initiales

Mots clés

Vitesse initiale, concentration d'enzyme, concentration de substrat, courbe $v = f[S]$

1. GÉNÉRALITÉS

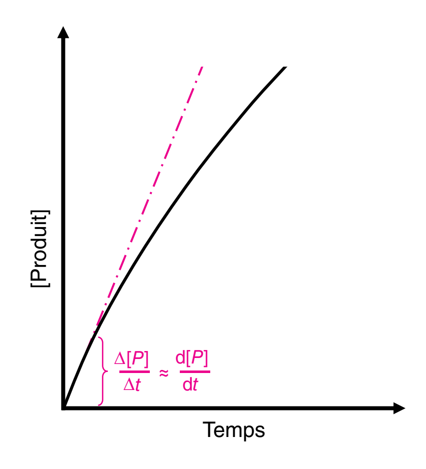
L'étude de la cinétique d'une enzyme consiste dans un premier temps à mesurer l'influence de la concentration du substrat – ou des substrats – sur la vitesse de formation du produit - ou des produits. Vient ensuite la phase d'interprétation de ces mesures qui conduit aux paramètres de vitesse maximum et d'affinité pour les substrats (Fiches 54-56).

Pour étudier la cinétique d'une enzyme, il est préférable de disposer de l'enzyme pure afin d'éviter toute interférence d'une réaction parasite dans le déroulement de la réaction. Il faut également s'assurer de la stabilité de l'enzyme dans les conditions d'étude : pH, température, composition du milieu d'incubation.

L'interprétation des résultats expérimentaux suppose que la concentration d'enzyme est beaucoup plus faible que la plus petite concentration de substrat utilisée (voir dans la Fiche 53 l'établissement de l'équation de Michaelis-Menten). Cette condition est généralement respectée lors des études cinétiques, car les concentrations d'enzyme sont de l'ordre de 10^{-8} à 10^{-9} mol·L^{-1}, alors que les concentrations de substrats se situent autour de $10^{-6} - 10^{-2}$ mol·L^{-1}.

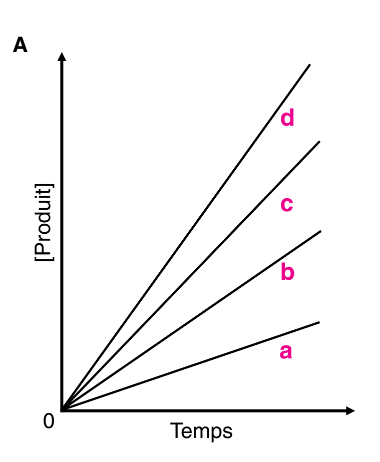
2. NOTION DE « VITESSE INITIALE »

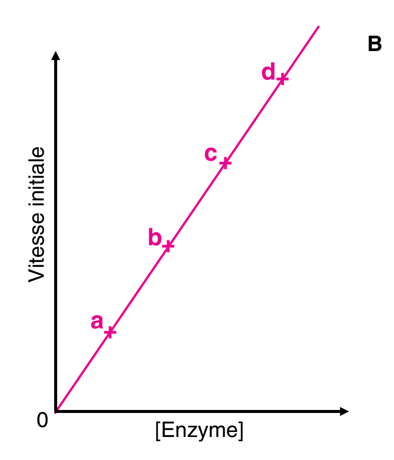
Dès que l'on met l'enzyme en contact avec une solution contenant le substrat, on observe la formation du produit en fonction du temps (courbe ci-contre). En toute rigueur on devrait mesurer la tangente de cette courbe à l'origine. En pratique, on considère que la courbe présente une partie rectiligne et l'on mesure l'augmentation de la concentration de produit $\Delta[P]$ pendant un intervalle de temps Δt. On estime que les résultats restent acceptables tant que la concentration de produit reste inférieure à 10 % de la concentration initiale de substrat.



3. INFLUENCE DE LA CONCENTRATION D'ENZYME SUR LA VITESSE INITIALE

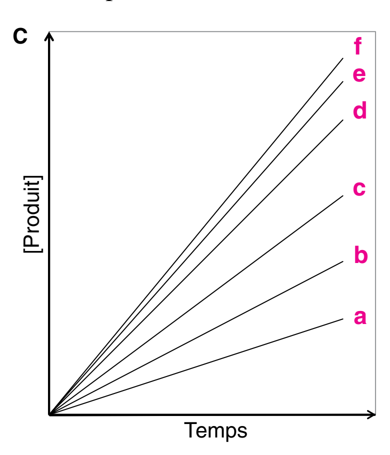
Si, pour une concentration constante de substrat, on mesure la vitesse initiale en présence de concentrations croissantes d'enzyme (**a** à **d**, diagramme A ci-dessous), on constate que cette vitesse est proportionnelle à la concentration d'enzyme (diagramme B) :

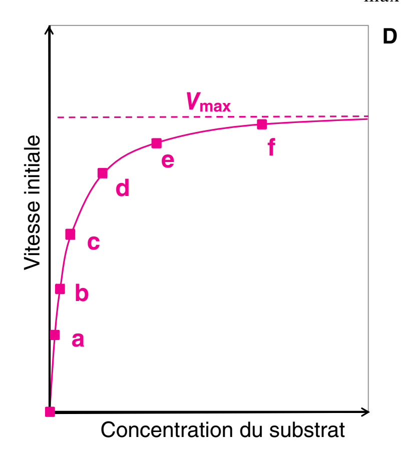




4. INFLUENCE DE LA CONCENTRATION DE SUBSTRAT SUR LA VITESSE INITIALE

Si maintenant on mesure la vitesse initiale en présence d'une concentration constante d'enzyme, mais en fonction de concentrations croissantes de substrat (**a** à **f**, diagramme C), on voit que cette vitesse augmente en fonction de $[S]$ (diagramme D), mais cette vitesse ne croît pas indéfiniment ; on atteint une limite, la vitesse maximum V_{max} :





Les graphes B et D peuvent être justifiés par l'existence d'un complexe entre l'enzyme et le substrat, ES, une espèce intermédiaire à l'origine de la formation du produit : la vitesse maximum est atteinte lorsque toutes les molécules d'enzyme se retrouvent sous la forme ES. Cette idée, suggérée par **Victor Henri** en 1903, a été formalisée par **Leonor Michaelis** et **Maud Menten** en 1913 (Fiche 54).

54 Équation de Michaelis-Menten

Mots clés

Schéma réactionnel, régime d'état stationnaire, k_{cat}, K_m, V_{max}

1. OBJECTIF

Établir sous la forme d'une équation algébrique la relation entre la vitesse initiale d'une réaction enzymatique et la concentration du substrat.

2. SCHÉMA RÉACTIONNEL

La transformation enzymatique du substrat en produit nécessite la formation préalable du complexe enzyme-substrat, ES, suivie de sa conversion en enzyme et produit :

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} ES \xrightarrow{k_{cat}} E + P \qquad (1)$$

Dans ce schéma :

- k_1 : constante de vitesse de formation du complexe ES, constante de vitesse d'ordre 2, dimension $mol \cdot L^{-1} \cdot s^{-1}$;
- k_{-1} : constante de vitesse de dissociation du complexe ES, constante de vitesse d'ordre 1, dimension s^{-1} ;
- k_{cat} : constante catalytique, constante de vitesse qui englobe la formation du complexe EP et sa dissociation en $E + P$; c'est une constante de vitesse d'ordre 1, dimension s^{-1}.
- la concentration de produit est nulle, puisque l'on mesure la vitesse initiale ; aussi, on ignore toute formation de complexe EP à partir de $E + P$. La réaction progresse uniquement vers la formation de produit, d'où l'expression de la vitesse de réaction :

$$v = k_{cat}\,[ES]$$

3. CALCUL DE LA VITESSE INITIALE EN CONDITIONS D'ÉTAT STATIONNAIRE

On considère que le système évolue dans des conditions d'état stationnaire ; en d'autres termes, la concentration du complexe ES est constante : dans un intervalle de temps infinitésimal, il se forme autant de complexe ES qu'il n'en disparait :

$$\frac{d[ES]}{dt} = 0 \qquad (2)$$

On exprime alors la vitesse de formation du complexe :

$$v_f = k_1\,[E][S] \qquad (3)$$

Et sa vitesse de disparition :

$$v_d = k_{-1}\,[ES] + k_{cat}\,[ES] \qquad (4)$$

Dans les conditions d'état stationnaire :

$$\frac{d[ES]}{dt} = 0 = v_f - v_d = k_1\,[E][S] - k_{-1}\,[ES] - k_{cat}\,[ES] \qquad (5)$$

La concentration totale d'enzyme $[E]_T$ est égale à la somme de la concentration de complexe $[ES]$ et d'enzyme libre $[E]$:

$$[E]_T = [ES] + [E] \quad \text{d'où} \quad [E] = [E]_T - [ES] \tag{6}$$

Par ailleurs, comme $[E]_T << [S]$ (cf. Fiche 53), la complexation du substrat par l'enzyme ne modifie pas sensiblement [S] qui représente indistinctement la concentration totale de substrat *et* la concentration de substrat libre. La relation (5) devient :

$$k_1[S]\{[E]_T - [ES]\} - k_{-1}[ES] - k_{cat}[ES] = 0 \tag{7}$$

$$[ES]\{k_1[S] + k_{-1} + k_{cat}\} = k_1[E]_T[S] \tag{8}$$

D'où $[ES]$:

$$[ES] = \frac{k_1[E]_T[S]}{k_1[S] + k_{-1} + k_{cat}} \tag{9}$$

$$[ES] = \frac{[E]_T[S]}{[S] + \dfrac{k_{-1} + k_{cat}}{k_1}} \tag{10}$$

Et l'expression de la vitesse, $v = k_{cat}[ES]$:

$$v = \frac{k_{cat}[E]_T[S]}{[S] + \dfrac{k_{-1} + k_{cat}}{k_1}} \tag{11}$$

Ou bien :

$$\boxed{v = \frac{V_{max}[S]}{[S] + K_m}} \tag{12}$$

où V_{max} est la vitesse maximum ($mol \cdot L^{-1} \cdot s^{-1}$) : $V_{max} = k_{cat}[E]_T$,
et K_m est la constante de Michaelis ($mol \cdot L^{-1}$) :

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_{cat}}{k_1}$$

55 Courbe $v = f[S]$, V_{max}, K_m

Mots clés

Saturation, hyperbole équilatère, V_{max}, K_m, $V_{max}/2$, affinité, turn-over

1. REPRÉSENTATION GRAPHIQUE DE L'ÉQUATION DE MICHAELIS

L'équation de Michaelis décrit la variation de la vitesse initiale en fonction de la concentration de substrat (graphe ci-contre). Si l'on transforme l'équation de Michaelis pour montrer la variation de v/V_{max} en fonction de $[S]$, on obtient la relation suivante :

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{[S]}{[S] + K_m} \qquad (1)$$

Cette relation permet de souligner des propriétés communes à toutes les cinétiques michaeliennes, quelles que soient leurs valeurs de V_{max} ou de K_m :

- On mesure une vitesse égale à la moitié de V_{max} lorsque la concentration de substrat est numériquement égale à K_m :

$$[S]_{0,5} = K_m \qquad (2)$$

K_m est la concentration de substrat pour laquelle $v = \dfrac{V_{max}}{2}$

- La vitesse est égale à $9/10^e$ de V_{max} lorsque la concentration de substrat est égale à $9\ K_m$: $[S]_{0,9} = 9K_m$; la vitesse est égale à $1/10^e$ de V_{max} lorsque la concentration de substrat est égale à $K_m/9$: $[S]_{0,1} = K_m/9$; le rapport $[S]_{0,9}/[S]_{0,1}$ est donc égal à 81 :

$$\frac{[S]_{0,9}}{[S]_{0,1}} = 9K_m \times \frac{9}{K_m} = 81 \qquad (3)$$

Cette valeur est caractéristique des cinétiques michaeliennes. Les cinétiques des enzymes allostériques présentent des rapports $[S]_{0,9}/[S]_{0,1}$ très différents de cette valeur (Fiche 61).

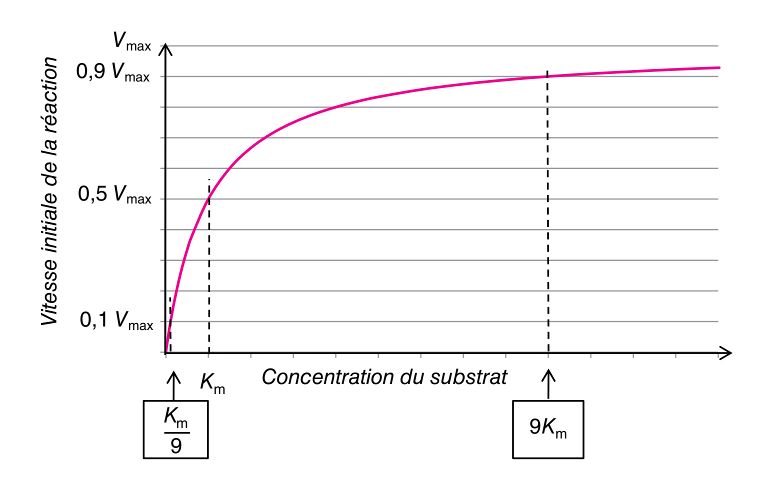
2. SIGNIFICATION DE V_{max}

La vitesse maximum est égale au produit de la concentration totale d'enzyme par la constante catalytique :

$$V_{max} = k_{cat}\,[E]_T \qquad (4)$$

Il s'agit bien sûr d'une valeur limite, jamais atteinte ; c'est la vitesse initiale de la réaction lorsque l'enzyme est théoriquement saturée à 100 %, c'est-à-dire lorsqu'elle se présente totalement sous la forme de complexe $[ES]$.

Si l'enzyme est pure, et si l'on connaît sa concentration, on peut en déduire k_{cat}.



Cette constante de vitesse d'ordre 1 (s^{-1}) est égale au nombre de moles de P formées à partir du complexe ES dans l'unité de temps (on a coutume d'appeler k_{cat} le **nombre de turn-over** de l'enzyme). Par exemple, si k_{cat} = 1 000 s^{-1}, cela signifie que lorsqu'elle se trouve entièrement sous la forme ES, une mole d'enzyme fournit 1 000 moles de produit par seconde.

3. SIGNIFICATION DE K_m

Le numérateur de la constante de Michaelis est la somme de deux constantes de vitesse affectées à deux réactions de directions opposées. K_m prend une signification différente selon les valeurs relatives de ces deux constantes ; on peut donner une interprétation simple dans deux situations extrêmes :

- $k_{cat} << k_{-1} \Rightarrow K_m \approx \frac{k_{-1}}{k_1}$

La constante de Michaelis est assimilée au quotient des deux constantes de vitesse k_{-1} et k_1, c'est-à-dire à la constante de dissociation du complexe ES. Le schéma réactionnel (relation 1 de la fiche 53) décrit un système où E, S et ES forment un quasi-équilibre.

L'affinité de l'enzyme pour le substrat est alors représentée par K_m : plus K_m est faible, plus l'affinité de l'enzyme pour le substrat est élevée, et vice-versa. Cette situation est rencontrée chez un grand nombre d'enzymes, par exemple chez les kinases, enzymes qui transfèrent un groupe phosphate de l'ATP sur, par exemple, les fonctions alcool.

- $k_{cat} >> k_{-1} \Rightarrow K_m \approx \frac{k_{cat}}{k_1}$

K_m s'apparente à une constante cinétique plutôt qu'à une constante de dissociation. On se trouve dans une telle situation avec la catalase, enzyme qui décompose le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en eau et dioxygène.

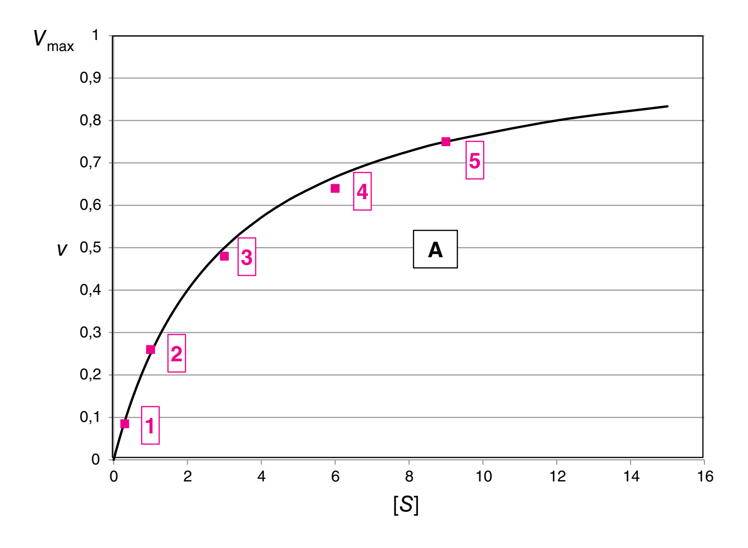
56 Détermination de K_m et V_{max}

Mots clés

K_m, V_{max}, Lineweaver et Burk, Hanes et Woolf, Eadie et Hofstee, Eisenthal et Cornish-Bowden

1. DÉTERMINER V_{max} À PARTIR DE MESURES DE VITESSE INITIALE

Cinq mesures de vitesse initiale sont portées dans la figure A. Les cinq points, numérotés dans l'ordre croissant des concentrations de substrat se disposent de part et d'autre de la courbe théorique à laquelle ils devraient appartenir ($V_{max} = 1$ et $K_m = 3$, unités arbitraires). Ces cinq valeurs expérimentales se révèlent insuffisantes pour évaluer V_{max} à partir du graphe ci-dessous.



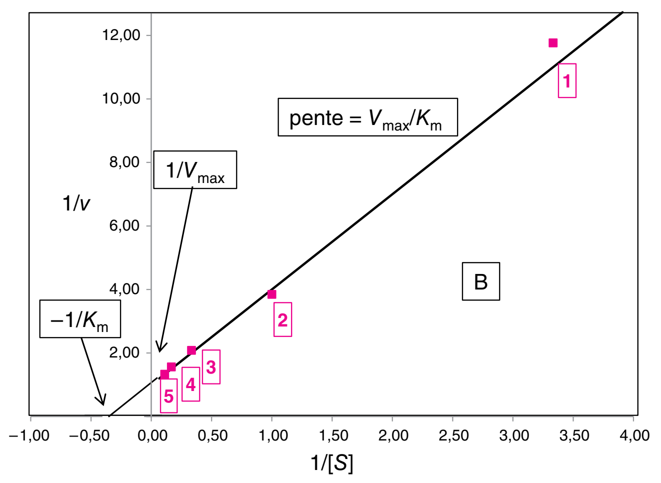
La courbe de saturation $v = f[S]$ est une hyperbole équilatère qui admet pour asymptotes $v = V_{max}$ et $[S] = -K_m$; il suffit d'introduire les données expérimentales dans un programme de calcul par régression non linéaire approprié pour en déduire les valeurs expérimentales de V_{max} et K_m. On peut toutefois préférer une méthode de détermination graphique.

2. MÉTHODES DE DÉTERMINATION GRAPHIQUE DE V_{max} ET K_m

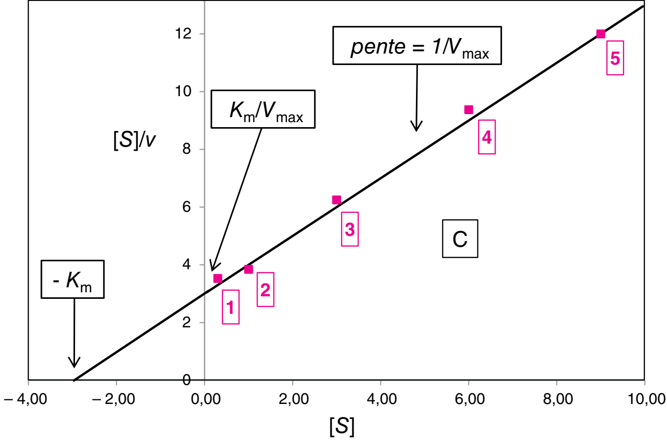
Nous nous limiterons aux quatre méthodes les plus utilisées. Les trois premières consistent à transformer l'équation de Michaelis de manière à obtenir l'équation d'une droite. Dans chacune de ces trois méthodes, les données transformées, reportées dans un système d'axes perpendiculaires, permettent de tracer une droite dont la pente et les intersections avec les axes servent à déterminer V_{max} et K_m ; on a coutume de désigner ces méthodes par les patronymes des auteurs qui les ont popularisées :

- $\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{max}} + \frac{K_m}{V_{max}} \times \frac{1}{[S]}$ (Lineweaver et Burk) ;
- $\frac{[S]}{v} = \frac{K_m}{V_{max}} + \frac{1}{V_{max}} \times [S]$ (Hanes et Woolf) ;
- $v = V_{max} - K_m \frac{v}{[S]}$ (Eadie et Hofstee).

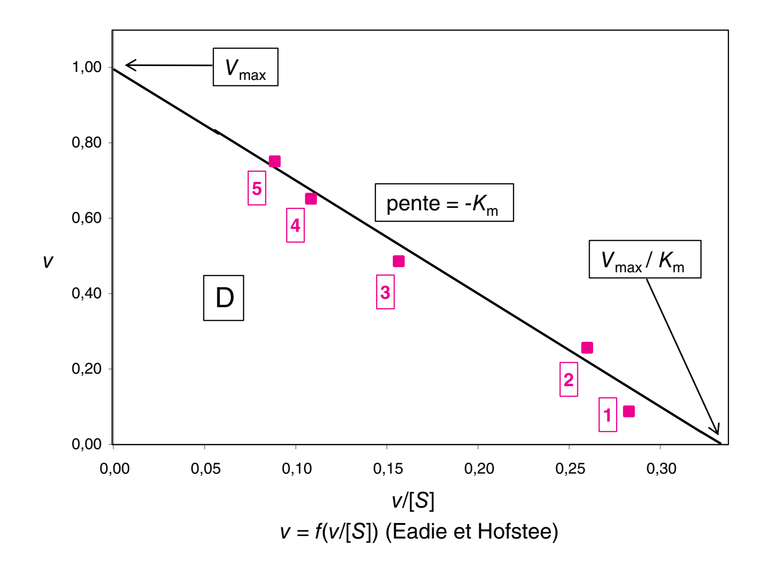
La courbe théorique (en noir) et les points expérimentaux de la figure A sont reproduits dans les diagrammes suivants après les transformations correspondantes :



$1/v = f(1/[S])$ (Lineweaver et Burk)

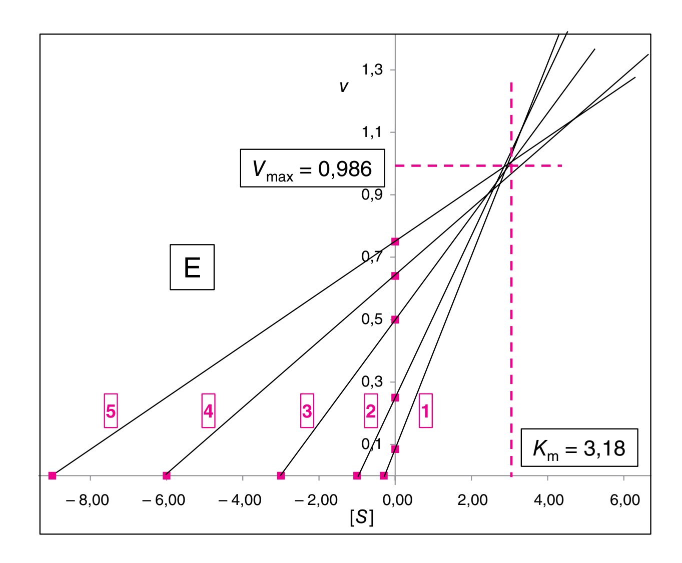


$[S]/v = f([S])$ (Hanes et Wolf)



$v = f(v/[S])$ (Eadie et Hofstee)

La quatrième méthode, proposée par Robert Eisenthal et Athel Cornish-Bowden (1974) consiste à tracer un réseau de droites à partir des couples de valeurs expérimentales ([*S*], *v*). Chaque couple de valeur ($[S]_i$, v_i) détermine une droite qui passe par les deux points (x = $-[S]_i$, y = 0) et (x = 0, y = v_i) ; les droites se rencontrent dans le premier quadrant au point d'abscisse K_m et d'ordonnée V_{max}.



En raison des erreurs expérimentales, les cinq droites ne se rencontrent pas au même point. On dénombre 10 points d'intersection[1], et donc une série de 10 abscisses et une série de 10 ordonnées, dont on choisit les valeurs médianes[2] : K_m expérimental (valeur médiane de la série des abscisses) et V_{max} expérimentale (valeur médiane de la série des ordonnées).

3. COMPARAISON DES MÉTHODES GRAPHIQUES

Ces quatre méthodes ont le mérite de conduire à des valeurs expérimentales de V_{max} et K_m. Les unes et les autres présentent toutefois des différences. Les trois premières méthodes transforment les données expérimentales, avec des conséquences spécifiques sur l'interprétation des résultats.

La représentation en doubles inverses $1/v = f(1/[S])$ (Lineweaver-Burk) tout à la fois comprime les valeurs élevées, et disperse les valeurs faibles de v et de $[S]$ (comparer les positions des points 3, 4 et 5 à celles des points 1 et 2 sur les graphes A et B). De ce fait, on perd la majorité des informations pour les valeurs élevées de la vitesse initiale, et on accorde une importance exagérée aux valeurs faibles, celles qui sont généralement entachées des plus fortes erreurs expérimentales.

La représentation $[S]/v = f([S])$ (Hanes et Woolf) gomme les erreurs expérimentales. À l'inverse, la représentation $v = f(v/[S])$ (Eadie et Hofstee) amplifie ces erreurs expérimentales, du fait que la vitesse est portée à la fois en abscisse et en ordonnée ; du moins cette dernière représentation permet d'apprécier du premier coup d'œil la qualité d'une série de mesures.

La méthode d'Eisenthal et Cornish-Bowden analyse les résultats sans aucune transformation et propose un traitement statistique simple et rapide. À l'expérience, on s'aperçoit que le choix des valeurs médianes est aussi fiable que des calculs de moyennes et d'écarts-types qui prennent en compte toutes les valeurs expérimentales, y compris les valeurs extrêmes.

La représentation en doubles inverses (Lineweaver et Burk) reste néanmoins la plus populaire, malgré son manque de fiabilité. C'est en effet la seule qui permet de désigner les paramètres $1/V_{max}$ (intersection avec l'axe des ordonnées) et $1/K_m$ (intersection avec l'axe des abscisses) à l'aide d'une simple ligne droite.

4. RÉCAPITULATION

Représentation	Nom usuel	Points de rencontre avec les axes		Pente
		Abscisse	Ordonnée	
$v = f([S])$	Michaelis	-	-	-
$1/v = f(1/[S])$	Lineweaver et Burk	$-1/K_m$	$1/V_{max}$	K_m / V_{max}
$[S]/v = f([S])$	Hanes et Woolf	$-K_m$	K_m / V_{max}	$1/V_{max}$
$v = f(v/[S])$	Eadie et Hofstee	V_{max} / K_m	V_{max}	$-K_m$
Graphe linéaire direct	Eisenthal et Cornish-Bowden	Valeurs médianes des séries		-
		Abscisse : K_m	Ordonnée : V_{max}	

1. n droites sécantes engendrent $n(n-1)/2$ points d'intersection ; $5(5-1)/2 = 10$.
2. Dans une série de valeurs ordonnées, si le nombre de valeurs est impair la valeur médiane est la valeur centrale ; si le nombre de valeurs est pair, la valeur médiane est égale à la moyenne des deux valeurs centrales.

57 Inhibition compétitive

Mots clés

Inhibition compétitive, Inhibition réversible, inhibition irréversible

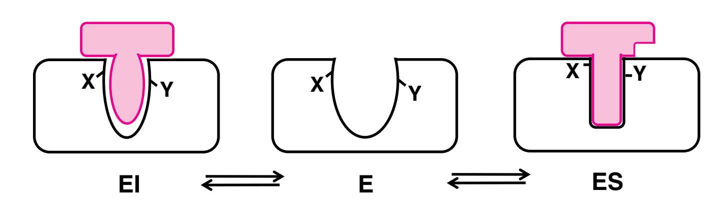
1. IMPORTANCE PRATIQUE ET THÉORIQUE DES INHIBITEURS

Un nombre considérable de molécules possédant une action biologique sont des inhibiteurs de réactions enzymatiques : analogues structuraux de substrats, ou réactifs qui modifient et inactivent spécifiquement les sites enzymatiques.

Les inhibitions peuvent être soit réversibles, soit irréversibles. Les fiches 57, 58 et 59 traitent des inhibitions réversibles, la fiche 60 des inhibitions irréversibles.

2. INHIBITION COMPÉTITIVE

Comme son nom l'indique, cette inhibition est le résultat d'une compétition entre l'inhibiteur et le substrat pour l'occupation du site enzymatique, en raison d'une analogie de structure entre le substrat et l'inhibiteur compétitif ; l'inhibition forme un complexe avec l'enzyme libre :



La fixation de l'inhibiteur compétitif exclut la fixation ultérieure du substrat, et vice-versa. Le complexe EI formé par l'association de l'enzyme et de l'inhibiteur est inactif :

$$EI \underset{k_{-I}}{\overset{k_I}{\rightleftarrows}} E \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} ES \xrightarrow{k_{cat}} E + P$$

La fixation réversible de l'inhibiteur sur l'enzyme est caractérisée par la constante de dissociation K_I :

$$K_I = \frac{[E][I]}{[EI]} = \frac{k_{-I}}{k_I} \qquad (1)$$

Et l'expression de la vitesse initiale de la réaction en fonction des concentrations de substrat et d'inhibiteur :

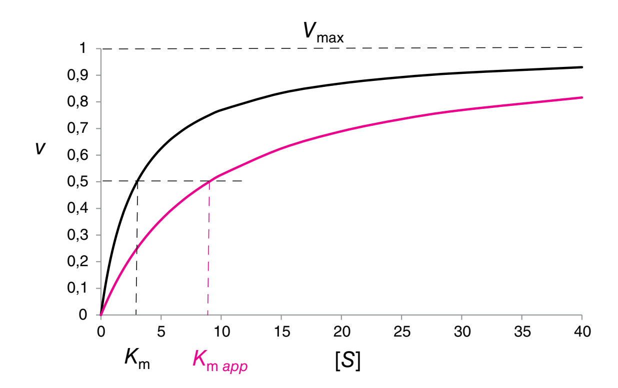
$$v = \frac{V_{max}\,[S]}{[S] + K_m\left(1 + \dfrac{[I]}{K_I}\right)} \qquad (2)$$

La courbe $v = f\,[S]$ est toujours une hyperbole équilatère admettant $v = V_{max}$ comme asymptote horizontale. On mesure une vitesse initiale égale à la moitié de la vitesse

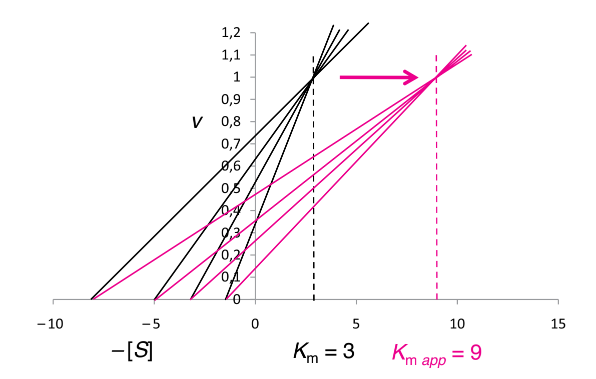
maximum pour une concentration de substrat égale à une valeur apparente $K_{m\,app}$ plus élevée que K_m mesurée en absence d'inhibiteur :

$$K_{m\,app} = K_m\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) \quad (3)$$

Les deux courbes de cinétique en absence et en présence d'inhibiteur convergent donc vers la même valeur limite V_{max} pour une concentration croissante de substrat ($V_{max} = 1$, $K_m = 3$, $K_I = 2$, $[I] = 4$, unités arbitraires) :



En présence d'inhibiteur compétitif, dans la représentation d'Eisenthal et Cornish-Bowden (ECB), les droites se rencontrent en un point dont l'abscisse $K_{m\,app}$ est plus élevée qu'en absence d'inhibiteur ; l'ordonnée reste inchangée.



3. QUELQUES INHIBITEURS COMPÉTITIFS

L'acide malonique, analogue de l'acide succinique est un inhibiteur compétitif de la succinate déshydrogénase (Fiche 82). Parmi les antibiotiques, le chloramphénicol est un inhibiteur de la peptidyltransférase, en raison de son analogie avec l'extrémité 3' des aminoacyl-ARNt. La sulfanilamide, première molécule de la classe des sulfamides, inhibe la formation de l'acide folique, en raison de son analogie avec l'acide para-aminobenzoïque (Fiche 50). Le glyphosate, utilisé comme herbicide systémique non sélectif (Roundup®) est un analogue du phosphoénolpyruvate qui inhibe la synthèse des aminoacides aromatiques chez les plantes.

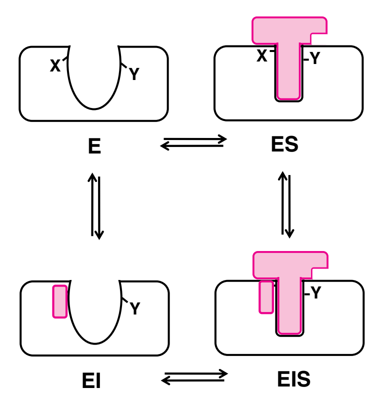
58 Inhibition non compétitive

Mots clés

Inhibition non compétitive, Inhibition réversible,

1. INHIBITION NON COMPÉTITIVE CONVENTIONNELLE

Dans le cas présent, l'inhibiteur forme un complexe avec l'enzyme libre E et avec le complexe ES.



Le complexe ternaire EIS se révèle inactif car dans cette forme d'inhibition, l'inhibiteur se fixe sur l'enzyme et empêche d'une manière ou d'une autre la réalisation de la catalyse, sans toutefois gêner la fixation du substrat. De même, le substrat ne gêne pas la fixation de l'inhibiteur, et la constante de dissociation du complexe EI (en E + I) est égale à la constante de dissociation du complexe EIS (en ES + I). Ces hypothèses conduisent au schéma réactionnel suivant :

$$\begin{array}{ccccc} E & \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} & ES & \xrightarrow{k_{cat}} & E + P \\ k_I \downarrow\uparrow k_{-I} & & k_I \downarrow\uparrow k_{-I} & & \\ EI & \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} & EIS & & \end{array}$$

avec :

$$K_I = \frac{[E][I]}{[EI]} = \frac{[ES][I]}{[EIS]} = \frac{k_{-I}}{k_I} \qquad (1)$$

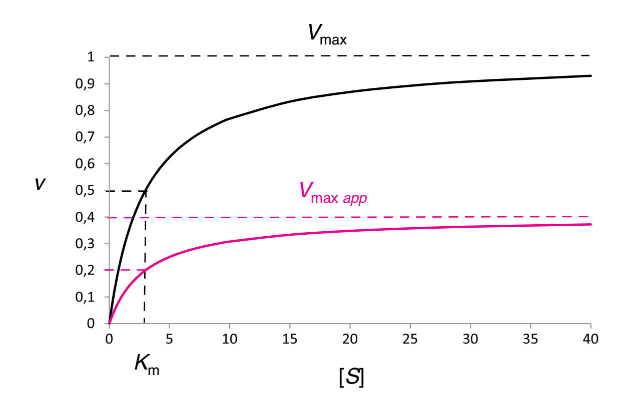
On traduit ce schéma par l'équation de vitesse initiale en fonction des concentrations de substrat et d'inhibiteur :

$$v = \frac{V_{max}\ [S]}{[S] + K_m} \times \frac{1}{1 + \dfrac{[I]}{K_I}} \qquad (2)$$

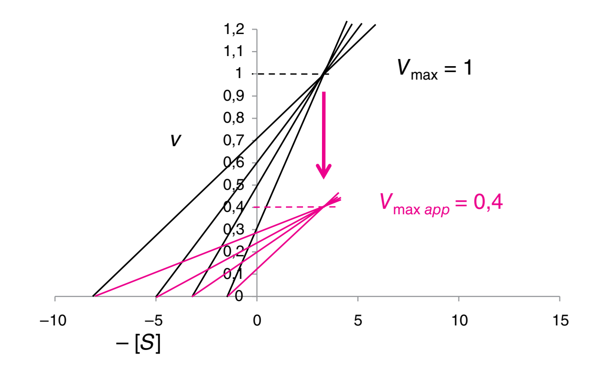
On reconnait dans cette équation la variation de la vitesse initiale en fonction de la concentration de substrat en l'absence d'inhibiteur, multipliée par une fraction dont la valeur ne dépend que de $[I]$ et K_I. D'après cette équation, quelle que soit la concentration du substrat, la vitesse est divisée par un facteur constant, d'où la vitesse maximum apparente :

$$V_{\max app} = \frac{V_{\max}}{1 + \frac{[I]}{K_I}} \quad (3)$$

La moitié de cette vitesse maximum apparente est obtenue pour une valeur de K_m identique à la K_m obtenue en absence d'inhibiteur. En présence d'inhibiteur non-compétitif, la K_m est donc inchangée, ce que l'on constate sur la courbe v = f[S] ($V_{\max} = 1$, $K_m = 3$, $K_I = 2$, $[I] = 3$, unités arbitraires) :



Ainsi que sur le graphe direct ECB :



2. INHIBITION MIXTE

En fait, les inhibitions purement non-compétitives sont peu fréquentes, car le plus souvent, l'inhibiteur modifie à la fois l'activité de l'enzyme et l'affinité pour le substrat. Le plus souvent, il diminue cette affinité, et on assistera à la diminution de $V_{\max}$ et à l'augmentation de K_m.

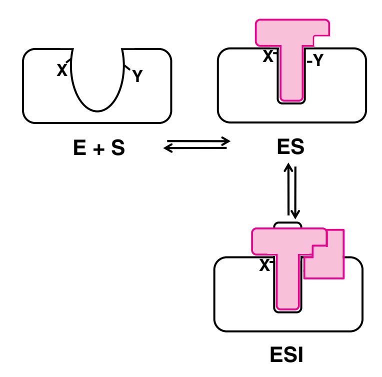
59 Inhibition anti-compétitive

Mots clés

Inhibition anti-compétitive. Inhibition réversible, lithium

1. CARACTÉRISTIQUES DE L'INHIBITION ANTI-COMPÉTITIVE

Un inhibiteur **anti-compétitif** (ou **incompétitif)** est une molécule qui se fixe exclusivement sur le complexe ES, pour donner un complexe ternaire ESI inactif :



On décrit le système par le schéma réactionnel suivant :

$$E \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_{cat}} E + P$$
$$ES \underset{k_{-I}}{\overset{k_I}{\rightleftharpoons}} ESI$$

La formation de ce complexe est régie par la constante de dissociation :

$$K_I = \frac{[ES][I]}{[ESI]} = \frac{k_{-I}}{k_I} \qquad (1)$$

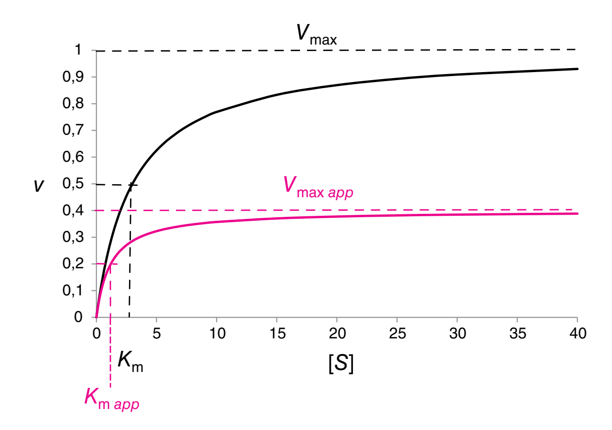
En régime d'état stationnaire, ce schéma conduit à l'équation de vitesse

$$v = \frac{V_{max}\,[S]}{[S]\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) + K_m} \qquad (2)$$

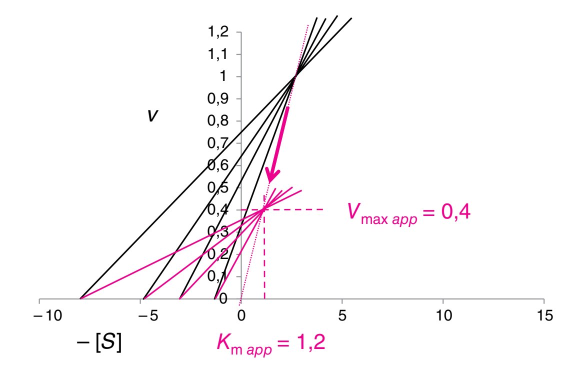
Lorsqu'on analyse cette équation, on voit que la vitesse maximum apparente et la K_m apparente sont obtenues en divisant les valeurs de V_{max} et K_m par le même facteur :

$$V_{max\,app} = \frac{V_{max}}{1 + \frac{[I]}{K_I}} \quad ; \quad K_{m\,app} = \frac{K_m}{1 + \frac{[I]}{K_I}} \qquad (3)$$

Ce qui est illustré par le graphe des deux courbes en absence et en présence de l'inhibiteur ($V_{max} = 1$, $K_m = 3$, $K_I = 2$, $[I] = 3$, unités arbitraires) :



Le point de rencontre des droites ECB se situe sur la ligne droite qui relie l'origine du biaxe rectangulaire au point x = K_m, y = V_{max}, car $V_{max\,app} / K_{m\,app} = V_{max} / K_m$, cf. relation (3) :



2. INHIBITEURS ANTI-COMPÉTITIFS

L'étude des enzymes modifiant un seul substrat montre que l'inhibition anti-compétitive est assez peu répandue. On observe plus fréquemment cette inhibition avec les enzymes à deux substrats, lorsque la fixation d'un premier substrat précède obligatoirement la fixation du second : un analogue structural, compétitif du premier substrat, pourra se comporter comme un inhibiteur anti-compétitif vis-à-vis du second substrat.

L'ion **lithium** (Li^+) est un inhibiteur anti-compétitif de l'**inositol-1-phosphatase**. Cette inhibition pourrait rendre compte, du moins en partie, de l'action du lithium utilisé pour le traitement des troubles bipolaires.

60 Inhibition irréversible

Mots clés

Inhibiteur irréversible, analogue de l'état de transition, réactifs alkylants, organophosphates.

1. CARACTÉRISTIQUES DE L'INHIBITION IRRÉVERSIBLE

Du point de vue cinétique, un inhibiteur irréversible se comporte comme un inhibiteur non-compétitif (Fiche 58) : il diminue la vitesse maximum sans toutefois modifier la K_m du substrat. La seule différence réside dans la stabilité du complexe enzyme-inhibiteur.

L'inhibition non-compétitive est réversible : il suffit de dialyser la solution contenant le complexe EI (Fiche 47), ou bien de la soumettre à une filtration sur gel (Fiche 48) pour dissocier le complexe, retrouver l'enzyme libre et, en principe, son activité. Les mêmes opérations seront sans effet si l'enzyme est associée, par exemple par liaison covalente, à un inhibiteur irréversible.

2. AGENTS ALKYLANTS

Il s'agit de réactifs permettant de greffer par covalence des groupements sur les fonctions particulièrement réactives des sites actifs. Par exemple, l'iodoacétate inactive la papaïne, protéase du papayer, en réagissant avec la fonction thiolate (résidu cystéine) du site actif :

Iodoacétate + Papaïne active (thiolate) → Papaïne inactive (thioacétate) + Iodure

Une réaction similaire conduit à l'inactivation irréversible des protéases comme la trypsine, la chymotrypsine et des estérases comme l'acétylcholine estérase dont le site actif comporte un résidu sérine, par l'action du **parahydroxymercuribenzoate** (*p*OHMB) ou du **fluorure de phénylméthylsulfonyl** (PMSF). Ces deux réactifs sont utilisés au laboratoire afin de préserver les protéines purifiées de l'action éventuelle des protéases à sérine.

3. INHIBITEURS SUICIDE

D'un point de vue chimique, ces inhibiteurs agissent comme les précédents, mais les **inhibiteurs suicide** agissent spécifiquement sur les enzymes qu'ils inactivent parce qu'ils sont reconnus somme des substrats, voire somme des analogues de l'état de transition.

Par exemple, l'aspirine est un inhibiteur suicide des cyclo-oxygénases 1 et 2 (Fiche 71). L'activité antibiotique des pénicillines et des céphalosporines est la conséquence de l'inhibition suicide des transpeptidases bactériennes, et de l'arrêt de la synthèse des peptidoglycannes des murs bactériens.

Les organophosphates, comme le ***di*-isopropylfluorophosphate** (DIFP) sont reconnus comme des analogues de l'état de transition des protéases et des estérases à sérine, mais en plus ils phosphorylent l'enzyme cible :

$$\text{DIFP} + \text{Trypsine active (–OH)} \longrightarrow \text{Trypsine inactivée (–O–PO(O}i\text{Pr)}_2) + F^- + H^+$$

DIFP — Trypsine active — Trypsine inactivée — Fluorure — Proton

4. ANALOGUES DE L'ÉTAT DE TRANSITION

Lorsqu'ils ne forment pas de liaison covalente ave le site actif, les analogues de l'état de transition se comportent comme des inhibiteurs compétitifs, car ils se fixent réversiblement sur les enzymes cibles. Toutefois, l'inhibition de ces enzymes est la conséquence de la formation d'un complexe EI, suivie d'une étape d'isomérisation au cours de laquelle la protéine change de conformation, ce qui conduit au complexe terminal EI* :

$$EI \underset{k_{-I}}{\overset{k_I}{\rightleftarrows}} E \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} ES \xrightarrow{k_{cat}} E + P \qquad EI \underset{k_{-I^*}}{\overset{k_{I^*}}{\rightleftarrows}} EI^*$$

Les étapes de transconformation qui conduisent aux complexes EI*, mais surtout les dissociations de ces mêmes complexes sont particulièrement lentes ; par exemple, les temps de demi-vie des complexes EI* se chiffrent en dizaines de minutes, voire en heures, alors qu'un complexe enzyme-inhibiteur classique se dissocie totalement en l'espace de quelques millisecondes. Aussi, compte tenu de la stabilité particulièrement élevée des complexes EI*, les inhibitions effectuées par les analogues de l'état de transition peuvent être considérées *de facto* comme des inhibitions irréversibles.

5. INHIBITEURS PROTÉIQUES

Ces molécules font partie de l'arsenal biologique assurant la régulation de l'activité des enzymes. L'inhibiteur de la trypsine, synthétisé par le pancréas, est une protéine de 6 kDa qui inactive spécifiquement la trypsine (34 kDa). La fixation de l'inhibiteur est réversible, mais la constante de dissociation du complexe trypsine-inhibiteur est égale à $6 \cdot 10^{-14}$ mol·L^{-1} ; ce complexe est donc très stable et il est préférable de considérer l'inhibiteur tryptique comme un inhibiteur irréversible.

61 Régulation allostérique

Mots clés

Régulation métabolique, effecteurs allostériques, allostérie, courbe sigmoïde

1. STRATÉGIE DE RÉGULATION DES VOIES MÉTABOLIQUES

Les vitesses de fonctionnement des voies métaboliques – les flux métaboliques –s'adaptent aux besoins de la cellule. Les produits finaux contrôlent leur propre formation en inhibant la première étape irréversible de chaque voie métabolique, qu'il s'agisse de métabolisme énergétique (Fiches 79-82) ou de biosynthèses.

L'activité de ces enzymes-cibles se trouve modulée par des métabolites – des **effecteurs** – dont la structure est différente des celle de leurs substrats. C'est la raison pour laquelle on qualifie ces effecteurs et ces enzymes d'**allostériques** (du grec *allos* différent, et *stereos*, solide). Les substrats et les effecteurs se fixent sur des sites distincts sur les enzymes allostériques

Nous prendrons comme exemple l'aspartate carbamyltransférase ou aspartate transcarbamylase (ATCase) de la bactérie *Escherichia coli*, enzyme qui présente toutes les caractéristiques des enzymes allostériques.

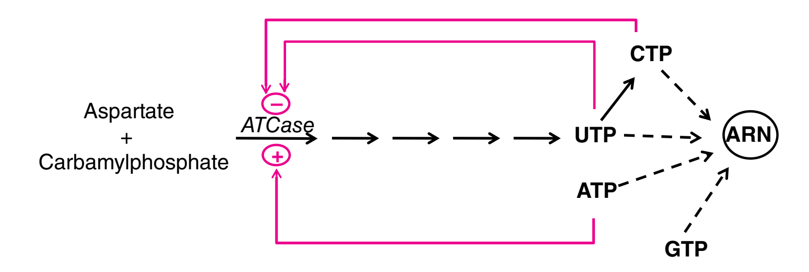
2. RÉGULATION DE LA SYNTHÈSE DES NUCLÉOTIDES PYRIMIDIQUES

L'ATCase catalyse la première réaction spécifique de la biosynthèse des nucléotides pyrimidiques :

Carbamylphosphate + Aspartate → Carbamylaspartate + Phosphate

Chez *E. coli*, la cytidine triphosphate (CTP), la molécule ultime de la voie de biosynthèse des nucléotides pyrimidiques (Fiche 76), inhibe cette réaction, mais se révèle sans action sur aucune des enzymes catalysant les étapes intermédiaires. La CTP exerce donc une **rétro-inhibition** sur la première étape de sa propre biosynthèse. L'uridine triphosphate (UTP), avant-dernier produit de la voie, renforce l'inhibition exercée par la CTP.

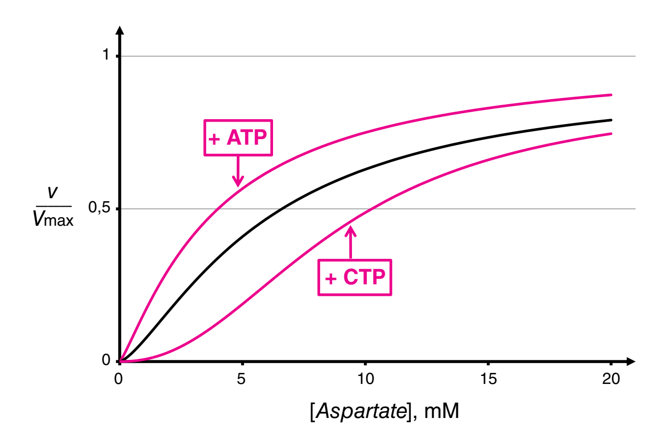
Au contraire de la CTP, l'adénosine triphosphate (ATP) active l'ATCase. Comme la synthèse des ARN nécessite la présence des quatre nucléosides triphosphate (Fiche 78), les nucléosides triphosphate puriques (ATP et GTP - guanosine triphosphate) et pyrimidiques (UTP et CTP), cette activation répond à une logique similaire : un excès d'ATP signifie que la synthèse d'ARN nécessite une synthèse accrue de CTP.



Première constatation, les trois effecteurs (CTP, UTP et ATP) sont des nucléosides triphosphate, des molécules de structures très différentes de celles des deux substrats, carbamylphosphate et aspartate ; cette comparaison justifie pleinement la qualification d'effecteurs allostériques.

CTP UTP ATP

Ensuite, la courbe qui montre les variations de la vitesse initiale en fonction de l'un des substrats, l'aspartate, est une courbe sigmoïde, et non hyperbolique comme dans le cas des enzymes michaeliennes (Fiches 54-56) :



Les effecteurs modifient la courbe de cinétique en agissant sur l'affinité apparente pour les substrats, mais ils laissent inchangée la vitesse maximum. Dans le cas présent, la CTP, **effecteur négatif**, augmente $[S]_{0,5}$, la concentration d'aspartate pour laquelle on observe la moitié de la vitesse maximum ; l'ATP, **effecteur positif**, a l'effet inverse, il diminue $[S]_{0,5}$. Ces propriétés se trouvent justifiées par la structure de l'ATCase et par les changements de conformation de l'enzyme induits par l'aspartate et par les effecteurs (Fiche 62).

62 Enzymes allostériques ; modélisation

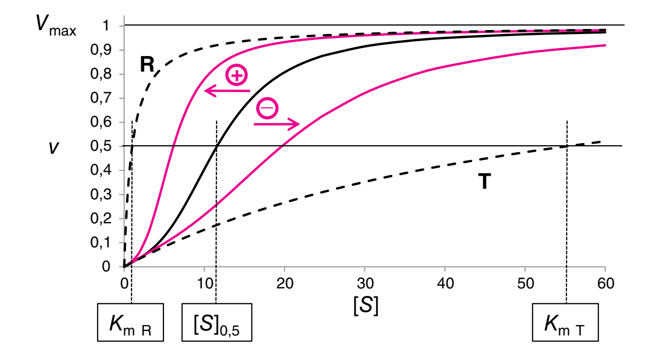
Mots clés

Effecteurs allostériques, enzymes allostériques, transition allostérique, modèles allostériques

1. TRANSITION ALLOSTÉRIQUE

$[S]_{0,5}$ étant la concentration de substrat pour laquelle on mesure une vitesse initiale égale à la moitié de V_{max}, on décompose en trois sections la courbe de cinétique d'une enzyme allostérique (courbe en trait noir continu) :

- lorsque la concentration de substrat est bien plus faible que $[S]_{0,5}$, la courbe de cinétique s'apparente à une courbe de cinétique michaelienne caractérisée par une affinité très faible pour le substrat (courbe T : $K_{m\ T}$ très élevé) ;
- lorsque la concentration de substrat est bien plus élevée que $[S]_{0,5}$, la courbe de cinétique s'apparente à une courbe de cinétique michaelienne caractérisée par une affinité très élevée pour le substrat (courbe R : $K_{m\ R}$ très faible) ;
- autour de $[S]_{0,5}$, l'augmentation de la concentration de substrat provoque la **transition** de la cinétique de très faible affinité (T) vers la cinétique d'affinité très élevée (R).



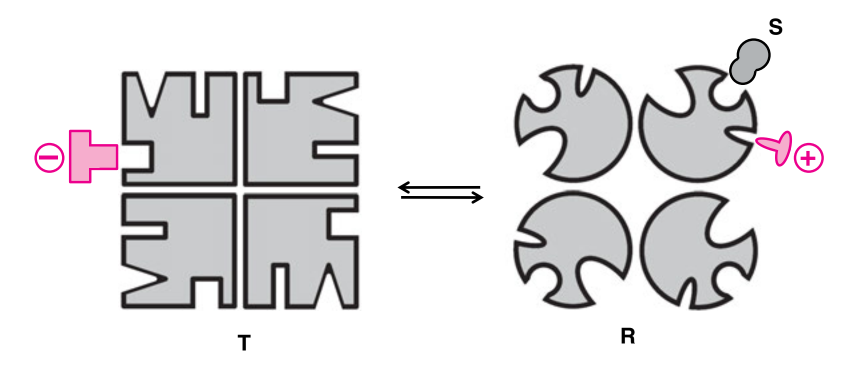
Un effecteur allostérique négatif (comme la CTP dans le cas de l'ATCase) modifie la cinétique en la rapprochant de la cinétique T ($[S]_{0,5}$ augmente), alors qu'un effecteur allostérique positif (comme l'ATP dans le cas de l'ATCase) modifie la cinétique en la rapprochant de la cinétique R ($[S]_{0,5}$ diminue).

2. CONFORMATIONS T ET R DES ENZYMES ALLOSTÉRIQUES

Une enzyme allostérique est un oligomère constitué de protomères : un protomère peut fixer une molécule de chacun des substrats et une molécule de chacun des effecteurs. Selon les enzymes, un protomère peut comporter une ou plusieurs chaînes polypeptidiques différentes.

Dans le modèle allostérique de **Monod, Wyman et Changeux** (1965), l'enzyme existe sous deux conformations en équilibre, T et R, dans lesquelles les protomères (ici, 4) sont équivalents.

Dans la conformation T, les protomères ont une faible affinité pour le substrat (S) et l'effecteur positif (+), et une forte affinité pour l'effecteur négatif (–). À l'inverse, la conformation R possède une affinité élevée pour le substrat et l'effecteur positif, et une faible affinité pour l'effecteur négatif. Finalement, on suppose que les deux conformations possèdent la même activité catalytique (même vitesse maximum pour les deux cinétiques de R ou de T) :



Ce modèle permet de rendre compte des courbes cinétiques présentées dans la figure de gauche. On suppose qu'en absence de substrat et d'effecteurs, l'équilibre est en faveur de la forme T. Le substrat se fixe préférentiellement sur la forme R ; l'équilibre se déplace vers cette forme R à mesure que l'on augmente la concentration de substrat. C'est ainsi que se réalise la transition allostérique T⟶R. Comme la fixation d'une molécule de substrat favorise la fixation de nouvelles molécules de substrat sur l'enzyme (sur la forme R), on parle de **fixation coopérative**, ou aussi de **coopérativité positive**.

La transition T⟶R est accentuée en présence d'effecteur positif et, à l'inverse, l'équilibre en faveur de la forme T est renforcé en présence d'effecteur négatif, ce qui justifie les modifications des courbes de cinétiques observées en présence de ces effecteurs (cf. figure de gauche).

Ce modèle rend compte des propriétés régulatrices de l'**ATCase** (Fiche 61), mais aussi de celles de la **phosphofructokinase–1**, régulée par l'ATP, le citrate et l'AMP (Fiche 80), la **PRPP aminotransférase**, première enzyme de la voie de biosynthèse des nucléotides puriques (Fiche 76), et nombre d'enzymes catalysant les premières étapes des voies de biosynthèse des acides aminés.

63 Oses simples

Mots clés

Aldose, cétose, série D, L, épimère, hémi-acétal, hémi-cétal, anomère, conformation chaise, bateau

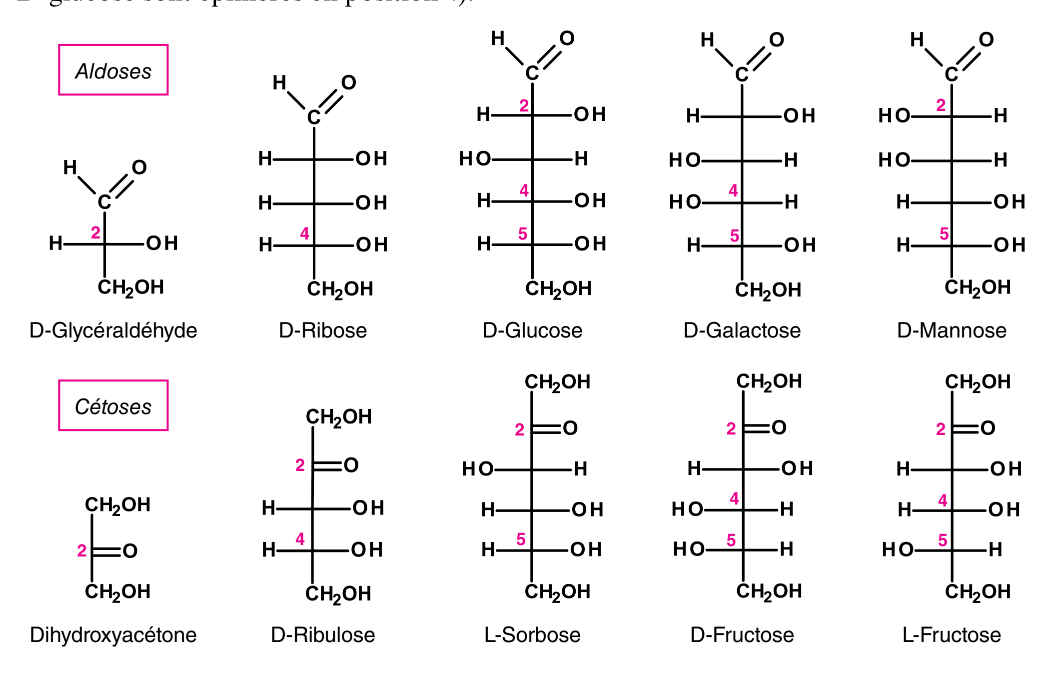
1. PRÉSENTATION GÉNÉRALE

Les oses simples, ou glucides simples, ou monosaccharides, ont pour formule brute $C_nH_{2n}O_n$ ($3 \leqslant n \leqslant 9$)). Ils présentent une chaîne carbonée non ramifiée, avec des liaisons simples entre les atomes de carbone, une fonction aldéhyde en C1 (**aldoses**) ou cétone en C2 (**cétoses**) et une fonction alcool sur chacun des autres carbones. On les nomme également trioses, tétroses, pentoses, hexoses, etc., en fonction du nombre de carbones (respectivement 3, 4, 5 et 6). La qualification d'un ose combine deux préfixes : aldopentose, cétohexose, etc.

2. FILIATION ET NOMENCLATURE DES OSES

Pour déterminer la filiation d'un ose, on compare la configuration de l'avant-dernier atome de carbone avec celle du carbone 2 des glycéraldéhydes D et L (Fiche 12). Les oses naturels appartiennent presque tous à la série D. Seule la dihydroxyacétone ne possède pas de carbone asymétrique.

Le passage de n à n+1 atomes de carbone introduit un nouveau centre chiral et multiplie par deux le nombre de **stéréoisomères** : 2^n stéréoisomères pour n centres chiraux. Il existe donc 16 aldohexoses (4 C chiraux) et 8 cétohexoses (3 C chiraux). Deux oses qui diffèrent par la configuration d'un seul C asymétrique sont des **épimères** (D-galactose et D-glucose sont épimères en position 4).



3. STRUCTURES CYCLIQUES

Une réaction de condensation intramoléculaire intervient entre la fonction aldéhyde et la fonction alcool en C5 des aldohexoses. Cette réaction conduit à une fonction **hémi-acétal** (Fiche 8) ; l'aldose linéaire devient un hétérocycle, qualifié de **pyranose** par homologie avec le **pyrane**, hétérocycle monooxygéné à 6 atomes. Exemple, la cyclisation du D-glucose :

D-Glucose | Cyclisation | α-D-glucopyranose | β-D-glucopyranose | Pyrane

Après la cyclisation, le C_1 devient asymétrique. On le nomme **carbone anomérique**, et on appelle **anomères** α et β les deux nouveaux stéréoisomères ; α : le nouveau groupe –OH et le carbone 6 se projettent de part et d'autre du plan du cycle dans la représentation en perspective de **Haworth** ; β : le nouveau groupe – OH et le carbone 6 se projettent du même côté du plan.

Les aldopentoses se cyclisent en formant une fonction hémi-acétal entre C1 et C4 ; les cétohexoses forment une fonction hémi-cétal (Fiche 8) entre C2 et C5. On qualifie ces cycles de **furanoses**, par homologie avec le **furane**. Exemples, le D-ribose et le D-fructose :

α-D-Ribofuranose | β-D-Ribofuranose | α-D-Fructofuranose | β-D-Fructofuranose | Furane

Les aldotétroses et les cétopentoses (exemple, le ribulose) ne forment pas de cycles stables en solution et restent essentiellement sous forme linéaire.

4. CONFORMATION

Les atomes des cycles pyraniques et furaniques adoptent des conformations variées à la faveur des rotations de liaisons C–C ou C–O. Les pyranoses peuvent adopter des conformations « chaise », ou « bateau », les premières étant les plus stables ; exemple : β-D-glucopyranose chaise (A) et bateau (B). Dans les conformations les plus stables des furanoses, quatre atomes, dont l'oxygène, se retrouvent dans un même plan ; exemple : le β-D-ribofuranose (C).

A | B | C

64 Glycosides, diosides, oligosides, hétérosides

Mots clés

Diholoside, liaison osidique, réducteur/non réducteur, chaîne oligosaccharidique, marqueur

1. OSIDES

Les osides sont des molécules dont l'hydrolyse, chimique ou enzymatique, libère au moins une molécule d'ose. On fera la différence entre :

- les **holosides** dont l'hydrolyse ne libère que des molécules d'oses,
- et les **hétérosides** dont l'hydrolyse libère, outre un ou plusieurs oses, des molécules non glucidiques, appelées **aglycones**. Le règne végétal abonde d'hétérosides variés dont les aglycones sont douées de propriétés pharmacodynamiques. Les nucléosides et les nucléotides sont des hétérosides (Fiches 75 et 76).

Les liaisons qui assurent les liens entre les oses ou entre les oses et les aglycones sont appelées **liaisons osidiques**. La formation d'une liaison *O*-osidique transforme un **hémi-acétal** (aldose) en **acétal** et un **hémi-cétal** (cétose) en **cétal** (Fiche 8).

2. DIHOLOSIDES

Un diholoside est le résultat de la formation d'une liaison osidique entre deux oses. Si un seul carbone anomère est engagé dans la liaison, le second carbone anomère est libre, on parle de **diholoside réducteur** (**maltose**, **lactose**) :

Maltose

(*O*-α-D-glucopyranosyl(1→4)-α-D-glucopyranose)

Lactose

(*O*-β-D-galactopyranosyl(1→4)-glucopyranose)

Si les deux carbones anomères sont engagés dans la liaison osidique, il s'agit d'une liaison **diosidique,** et le diholoside est **non réducteur** (**saccharose, tréhalose**) (figure à droite).

Saccharose

(O-α-D-glucopyranosyl)(1→2)-β-D-fructofuranoside)

Tréhalose

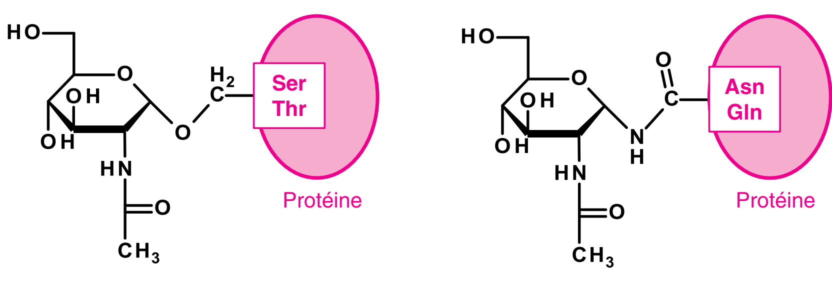
(O-α-D-glucopyranosyl)(1→1)-α-D-glucopyranoside)

3. CHAÎNES OLIGOSACCHARIDIQUES

Elles contiennent entre trois et quelques dizaines de résidus d'oses, reliés par des liaisons osidiques. On peut les trouver libres ou liées à une protéine, l'ensemble formant alors une **glycoprotéine**, ou bien à des lipides, donnant alors un **glycolipide** (Fiches 68, 72).

Dans les cellules animales, les oligosaccharides des glycolipides et glycoprotéines membranaires sont extracellulaires. Ils constituent des marqueurs de surface, porteurs d'information (Fiche 72).

Les chaînes oligosaccharidiques des glycoprotéines contiennent des oses (xylose, galactose, mannose) ainsi que des dérivés d'oses (fucose, ***N*-acétyl-glucosamine**, ***N*-acétyl-galactosamine**) et d'autres types de molécules. Leur liaison avec la protéine implique l'extrémité réductrice de la chaîne, c'est-à-dire une fonction hémiacétal. Il apparaîtra alors une liaison ***O*-glycosidique** avec un acide aminé porteur d'une fonction alcool (sérine, thréonine) ou une liaison ***N*-glycosidique** avec un acide aminé porteur d'une fonction amide (asparagine, glutamine), par exemple :



Liaison *O*-glycosidique

Liaison *N*-glycosidique

65 Les polyosides

Mots clés

Glycogène, amidon, cellulose, homopolyosides, hétéropolyosides

Les **polyosides**, également nommés **polysaccharides** ou **polyholosides** sont des macromolécules constituées d'un nombre élevé d'unités monosaccharidiques. Ils jouent des rôles primordiaux dans la mise en réserve de l'énergie et dans le maintien de l'intégrité structurale des organismes. Lorsque toutes les unités saccharidiques du polyoside sont identiques, celui-ci est dit **homopolyoside** ; lorsqu'elles sont différentes, le polyoside est dit **hétéropolyoside**, à ne pas confondre avec un **hétéroside** constitué de l'association d'un ose avec une molécule non glucidique dite **aglycone**. Les principaux polyosides rencontrés dans la nature sont regroupés dans le tableau ci-après.

A B C D E F G

Formules développées des unités répétitives de quelques polyosides. A : Amylose ; B : Cellulose ; C : Glycogène et amylopectine ; D : Structure en buisson du glycogène ; E : Hyaluronate ; F : Héparine ; G : Unités disaccharidiques du peptidoglycane, constituant de la paroi des bactéries * : Site de liaison du tétrapeptide.

Type	Nom	Constitution			Nombre d'unités	Rôle biologique
		Unité 1	Unité 2	Type de liaison		
Homo polyoside	Glycogène	Glc	Glc	$\alpha(1\rightarrow4)$ et $\alpha(1\rightarrow6)$ tous les 10 résidus	> 50 000	Réserve énergétique chez les animaux, les champignons et les bactéries
	Amylopectine	Glc	Glc	$\alpha(1\rightarrow4)$ et $\alpha(1\rightarrow6)$ tous les 30 résidus	> 10 000	Réserve énergétique chez les végétaux (composant de l'amidon)
	Amylose	Glc	Glc	$\alpha(1\rightarrow4)$	> 1 000	Réserve énergétique chez les végétaux (composant de l'amidon)
	Cellulose	Glc	Glc	$\beta(1\rightarrow4)$	20 à 14 000	Polymère de structure chez les végétaux
	Chitine	GlcNAc	GlcNAc	$\beta(1\rightarrow4)$	> 10 000	Constituant de l'exosquelette des arthropodes et de la paroi des champignons
	Xylane	Xyl	Xyl	$\beta(1\rightarrow4)$	> 10 000	Polymère de structure chez les algues vertes
					~150	Constituant majeur des hémicelluloses
Hétéro polyoside	Hyaluronate	GlcU	GlcNAc	$\beta(1\rightarrow4)$	> 10 000	Constituant de la matrice extracellulaire du tissu conjonctif, constituant du cartilage
	Héparine	Ido-2S	Gln–2,3,6S	$\alpha(1\rightarrow4)$	variable	Anticoagulant
	Chondroïtine sulfate	GlcU ou GlcU-2S	GalNAc ± sulfaté	$\beta(1\rightarrow3)$	> 10 000	Constituant de la matrice extracellulaire
	Hémicelluloses	Glc	Xyl ; Man ; Gal, Rha	$\beta(1\rightarrow4)$	100-200	Polymères de structure chez les végétaux
	Peptidoglycane	GlcNAc	MurNAc	$\beta(1\rightarrow4)$	Très élevé	Constituant de la paroi des bactéries

Glc : glucose ; Gln : Glucosamine ; GlcNAc : N-acétyl-glucosamine ; Xyl : xylose ; GlcU : acide glucuronique ; Ido-2S : iduronate -2-sulfate ; Gln-2,6S : glucosamine-2, 6 sulfate ; MurNAc : Acide N-acétyl-muramique

66 Acides gras

Mots clés
Acides gras, lipides, acides gras insaturés, oméga, acides gras essentiels

1. OBJECTIF

Connaître la structure moléculaire des différents acides gras, constituants caractéristiques des lipides.

2. STRUCTURE

La molécule d'acide gras est une chaîne aliphatique, formée d'une succession de $-CH_2-$, ayant de 4 à 36 atomes de carbone. On note deux caractères importants :

- un groupement carboxyle – COOH, à une extrémité, qui donne le caractère acide. Il est dissocié à pH 7, et de caractère hydrophile ;
- une chaîne linéaire hydrocarbonée à caractère hydrophobe.

On identifie les carbones par des numéros : C1 est le carbone du carboxyle de tête, on a ensuite C2, C3, etc., jusqu'au C terminal du groupement méthyle. Une autre identification attribue la lettre α au C2 et β au C3, le C terminal est noté oméga ω.

3. LES ACIDES GRAS SATURÉS

Les acides gras saturés sont constitués d'une chaîne hydrocarbonée ne comportant que des liaisons simples. Ils ont en général un nombre pair de carbones. La formule générale est : $\mathbf{CH_3 - (CH_2)_n - COOH}$

On représente leur symbole par C suivi du nombre de carbones et de 0 pour l'absence de double liaison puisqu'ils sont saturés. Par exemple l'acide palmitique, à 16 atomes de carbone, s'écrit : C16 :0 (cf. tableau suivant).

Dans la chaîne la distance entre 2 carbones est de 0,154 nm et l'angle formé par 2 liaisons successives C–C est de 111°. Les acides gras saturés ont une chaîne en zigzag, rectiligne dans son ensemble, et flexible car les groupes CH_2 peuvent tourner librement autour des liaisons C–C. Dans la cellule, les chaînes d'acides gras juxtaposées, établissent entre elles des liaisons de Van der Waals en nombre proportionnel à la longueur de la chaîne hydrocarbonée.

n	d.l.	Nom commun	P.F. (°C)	Formule moléculaire	Symbole
12	0	laurique	44,2	$CH_3(CH_2)_{10}\ COO^-$	C12 :0
14	0	myristique	53,9	$CH_3\ (CH_2)\ _{12}COO^-$	C14 :0
16	0	palmitique	63,1	$CH_3\ (CH_2)\ _{14}\ COO^-$	C16 :0
18	0	stéarique	69,6	$CH_3\ (CH_2)\ _{16}\ COO^-$	C18 :0
20	0	arachidique	76,5	$CH_3\ (CH_2)\ _{18}\ COO^-$	C20 :0
22	0	béhénique	80,0	$CH_3\ (CH_2)\ _{20}COO^-$	C22:0
16	1	palmitoléique	–0,5	$CH_3\ (CH_2)_5\ CH{=}CH(CH_2)_7COO^-$	$16{:}1\Delta^9$
18	1	oléique	13,4	$CH_3\ (CH_2)_7CH{=}CH(CH_2)_7COO^-$	$18{:}1\ \Delta^9$
18	2	linoléique	–5,0	$CH_3(CH_2)_4(CH{=}CHCH_2)_2(CH_2)_6COO^-$	$18{:}2\ \Delta^{9,12}\ \omega6$
18	3	α linolénique	–11,0	$CH_3CH_2(CH{=}CHCH_2)_3(CH_2)\ _6COO^-$	$18{:}3\ \Delta^{9,12,15}\ \omega3$
18	3	γ linolénique	–11,0	$CH_3\ (CH_2)_4(CH{=}CHCH_2)_3(CH_2)_3COO^-$	$18{:}3\ \Delta^{6,9,12}\ \omega6$
20	4	arachidonique	–49,5	$CH_3\ (CH_2)_4(CH{=}CHCH_2)_4(CH_2)_2COO^-$	$20{:}4\ \Delta^{5,8,11,14}\ \omega6$

Col. 1 = Nombre de carbones ; Col. 2 = nombre de doubles liaisons

4. LES ACIDES GRAS INSATURÉS

Les acides gras insaturés ont une ou plusieurs doubles liaisons (d.l) entre deux atomes de carbone successifs – HC=CH–. Dans les acides gras insaturés, les doubles liaisons sont en configuration isomérique *cis* (Fiche 10) où les substituants H sont localisés du même côté. Cette configuration *cis* provoque une courbure de la chaîne d'un angle de flexion de 30°. Le symbole comporte le nombre de carbones suivi du nombre de doubles liaisons, et la position des doubles liaisons est indiquée, en exposant, sur la lettre delta Δ. L'acide oléique s'écrit $C18\ {:}1\Delta^9$

- **Les acides gras mono-insaturés** ont une seule double liaison située, en général, entre les carbones C9 et C10. La chaîne présente une flexion de 30° par rapport à la chaîne saturée de même longueur. Exemple : l'acide stéarique saturé à 18 C est rectiligne tandis que l'acide oléique $18\ {:}1\Delta^9$, avec aussi 18 C, mais une double liaison en C9-C10, présente une courbure.
- **Les acides gras poly-insaturés** comportent dans leurs chaînes plusieurs doubles liaisons toujours séparées par un ou plusieurs groupes méthylènes : $– CH{=}CH–CH_2 – CH_2– CH{=}CH– CH_2 –$. Les doubles liaisons sont en configuration *cis* et souvent en position C9, C12, C15. Chaque double liaison provoque une flexion de la chaîne de 30° ; dans la succession de doubles liaisons les inflexions se compensent et la molécule est torsadée comme le montre la figure ci-après. Une double liaison empêche la rotation des 2 C successifs, d'où une flexibilité réduite des chaînes et les liaisons de Van der Waals inter chaînes sont rendues impossibles.

Les acides gras poly-insaturés peuvent perdre un hydrogène c'est l'auto-oxydation. Il y a formation d'un radical libre lipidique, toxique pour la cellule, qui en réagissant avec O_2 forme un radical peroxyde destructeur de la cellule. Pour supprimer ces radicaux toxiques, la cellule fait intervenir des enzymes de protection : la superoxyde dismutase et les peroxydases. Les vitamines C (acide ascorbique, Fiche 50) et E (α-tocophérol, Fiche 51) piègent ces radicaux libres.

Acide stéarique 18:0

Acide linolénique 18:3 $\Delta^{9,12,15}$

Les familles les plus importantes des acides gras ont pour précurseurs l'acide oléique 18:1Δ^9, l'acide linolénique 18:3$\Delta^{9,12,15}$, et l'acide linoléique 18:2$\Delta^{9,12}$. À partir de ces trois composés les autres acides gras les plus courants, sont formés chez les animaux par une suite d'allongements et de désaturations.

5. ACIDES GRAS OMÉGA

Il s'agit d'acides gras poly-insaturés présentés dans la notation ω : le groupement méthyle terminal est noté ω1. Les ω3 ont une double liaison sur le troisième carbone en partant de ω1, ainsi 18:3 ω3 est l'**acide α linolénique**. Les ω6 ont une double liaison sur le sixième carbone en partant du méthyle ω1, on a 18:2 ω6 l'**acide linoléique**. Les végétaux produisent ces acides gras, par contre les mammifères n'ayant pas l'enzyme qui permet l'introduction des doubles liaisons sur les atomes de carbone au-delà du carbone C9, ne peuvent pas synthétiser ces deux acides gras appelés « acides gras essentiels ». L'homme doit trouver les acides gras ω3 et ω6 dans son alimentation. L'importance des ω3 et ω6 est due au fait qu'ils sont les précurseurs des prostaglandines et d'autres molécules indispensables ayant des activités biologiques (Fiche 71). Les acides linolénique et linoléique sont des acides gras respectivement ω3 et ω6.

6. AUTRES ACIDES GRAS

Les **acides gras hydroxylés** comportent un ou plusieurs **groupements hydroxyle** (OH) se substituant aux atomes d'hydrogène. Chez les animaux on rencontre des OH sur le C2 dans l'acide cérébronique : 2-hydroxy C24 :0, et l'acide nervonique : 2-OH C24 :1Δ^{15}, présents dans les glycosphingolipides (Fiche 68) des tissus nerveux.

Acide nervonique 2 hydroxy C24:1 Δ^{15}

Dans la sphingomyéline des testicules et des spermatozoïdes des mammifères, on trouve des OH sur C2 dans des acides gras à 28 et 32 carbones avec 4 ou 5 doubles liaisons.

Dans les végétaux l'acide ricinoléique de l'huile de ricin porte un OH en C12 : 12-hydroxyl C18 :1Δ^9 il est utilisé dans les industries des cosmétiques, de l'agroalimentaire et des peintures.

Les **acides gras méthylés** portent un CH_3 qui se substitue à un hydrogène généralement sur un des carbones terminaux. Ils sont en général saturés et communs chez les bactéries. Le bacille de Koch, *Mycobacterium tuberculosis,* responsable de la tuberculose, est riche en acide tuberculostéarique C18 :0 avec CH_3 en 10 qui caractérise le genre. Ce même bacille contient dans le feuillet interne de sa paroi, des acides gras complexes de 60 à 90 atomes de carbone et ramifiés portant des CH_3 . Ce sont les acides **mycoliques** .

Dans les végétaux on rencontre l'acide phytanique C16 :0 avec quatre CH_3 en 3,7,11,15, c'est un dérivé du phytol de la chlorophylle présent dans l'alimentation humaine.

7. PROPRIÉTÉS PHYSIQUES ET RÔLES

Les propriétés des acides gras sont déterminées par la longueur des chaînes et par leur degré d'insaturation. La chaîne hydrocarbonée ne porte pas de charge, elle est non polaire, de ce fait les acides gras sont très peu solubles dans l'eau. Plus la chaîne est longue plus la solubilité est faible et d'autant plus faible que le nombre de doubles liaisons est élevé.

De même, le **point de fusion** (PF) dépend à la fois de la longueur et du degré d'insaturation de la chaîne. Dans les acides gras saturés le point de fusion augmente avec la longueur de la chaîne. Les associations inter-chaîne, par interactions de Van der Waals, sont d'autant plus nombreuses que la chaîne est longue et l'énergie nécessaire à la fusion sera alors plus élevée. Par contre, les acides gras insaturés ayant peu de liaison inter-chaîne le point de fusion est abaissé : l'acide stéarique (18 :0) saturé, a un PF proche de 70 °C alors que celui de l'acide oléique (18 :1 Δ^9) est de 13,4 °C pour une même longueur de chaîne.

Les acides gras sont rarement libres et le plus souvent associés à une autre molécule pour former un lipide, c'est ainsi qu'ils participent à la structure des membranes biologiques (Fiches 68 et 72), ils sont précurseurs d'hormones (Fiches 69 et 70) et fournisseurs d'énergie (Fiche 67).

67 Triacylglycérols

Mots clés

Acides gras, glycérol, adipocytes, lipoprotéines, lipases

1. OBJECTIF

Décrire les molécules de triacylglycérol, véritables réservoirs de l'énergie métabolique.

2. STRUCTURE

Ces lipides simples, appelés aussi glycérides ou acylglycérols, regroupent les monoacylglycérols, les diacylglycérols et les triacylglycérols. Ils sont constitués par un glycérol estérifié respectivement par un, deux ou trois acides gras (Fiche 65). Pour localiser la position des acides gras on numérote les atomes de carbone : en utilisant la projection de Fischer (Fiche 12), si le groupe alcool secondaire est orienté à gauche du carbone C2, le carbone au-dessus est appelé C1 et l'autre C3. La position de l'acide gras est indiquée par le préfixe *sn* (*stereospecifically numbered*) ou usuellement par le numéro du carbone.

- **Monoacylglycérols**

Ce sont des mono-esters de glycérol avec deux isomères selon la position de l'acide gras estérifié R_1 sur le C_1 ou R_2 en position sur C_2. Les monoacylglycérols sont des intermédiaires dans la dégradation par lipolyse des triacyl- et diacyl-glycérols.

sn-1-Monoacyl-glycérol

sn-1,2-Diacyl-glycérol

- **Diacylglycérols**

Glycérol

Triacyl-glycérol

R_1 = C16:0 R_2 = C18:Δ^9 R_3 = C18:0

Isomère I

Isomère II

Les diacylglycérols sont des diesters du glycérol avec des acides gras en position C1 et C2 ou en position 1 et 3. L'acide gras en position 2 est très souvent insaturé. Les diacylglycérols sont formés lors de la digestion des triacylglycérols par les lipases. Il se forme des 1,2 et des 2,3-diacylglycérols qui s'isomérisent en 1,3-diacylglycérols. Dans la cellule les diacylglycérols peuvent être produits à partir des phospholipides principalement les phosphatidyl–inositides de la membrane par action de la phospholipase C (Fiche 68), le diacylglycérol libéré participe à la transmission des signaux cellulaires en activant la protéine kinase C.

- **Triacylglycérols**

Dans les triacylglycérols les trois fonctions alcool du glycérol sont estérifiées par des acides gras R_1, R_2, R_3. Dans le cas où les acides gras en position 1 et 2 sont différents, un

centre d'asymétrie apparaît au niveau du C2, on peut avoir les isomères I et II. La majorité des triacylglycérols naturels sont des isomères II, l'acide gras en position 2 est le plus souvent insaturé. Les triacylglycérols simples ont le même acide gras sur les trois carbones du glycérol. Sur les triacylglycérols mixtes on trouve 2 ou 3 acides gras différents, on les désigne en précisant la position des acides gras sur les carbones du glycérol. Les triacylglycérols sont des lipides neutres, non polaires donc hydrophobes. Chez les Vertébrés les triacylglycérols s'accumulent dans les adipocytes blancs où ils sont localisés dans des vésicules qui occupent tout le cytoplasme. Les adipocytes bruns sous-cutanés ont une fonction de thermoprotection pour les animaux exposés à de basses températures.

3. MOBILISATION ET TRANSFERT

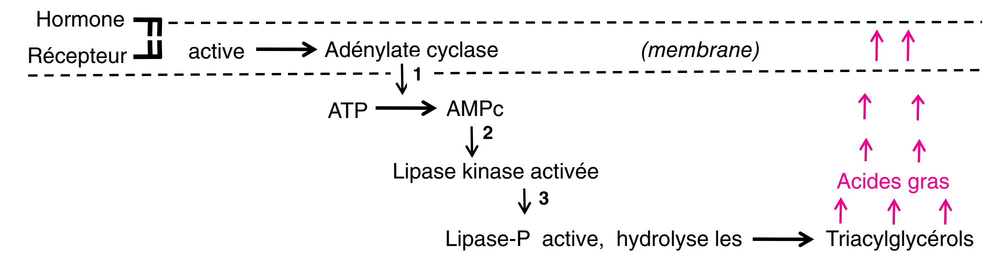
L'hydrolyse enzymatique, par des lipases, libère les acides gras dont la dégradation fournit l'énergie métabolique nécessaire à la cellule. Par exemple un palmitate libéré et dégradé procure 106 molécules d'ATP. (Fiche 84). Ainsi, les triacylglycérols alimentaires et stockés dans les tissus adipeux sont des réserves d'énergie.

- **Lipase pancréatique (triacylglycérol lipase)**

Elle agit sur les triacylglycérols alimentaires dans l'intestin. Elle catalyse l'hydrolyse des triacylglycérols en position 1 et 3 pour donner des 1,2-diacylglycérols puis des 2-monoacylglycérols. Cependant les triglycérides hydrophobes sont inaccessibles à la lipase qui est en solution aqueuse ; c'est pourquoi ils sont émulsifiés par les sels biliaires (Fiche 70) sécrétés par la bile, formant des micelles dans lesquelles les liaisons esters sont orientées en surface. L'activité de la lipase est augmentée lorsqu'elle est complexée à une colipase et à des micelles de phosphatidylcholine. Cette structure peut atteindre la surface des micelles et l'hydrolyse se fait à l'interface lipide-eau. Les produits libérés passent la membrane des entérocytes, et, dans ces cellules intestinales les triacylglycérols sont resynthétisés au niveau du reticulum endoplasmique. Ils s'associent au cholestérol, aux vitamines liposolubles et sont inclus, avec des protéines, dans les particules appelées chylomicrons (Fiche 70). Les chylomicrons, qui sont libérés dans la lymphe puis dans le sang, sont reconnus par la lipoprotéine lipase des tissus adipeux et autres endothéliums. Les troacylglycérols sont dégradés en acides gras et monoacylglycérol, puis transportés dans la cellule et resynthétisés pour y être stockés.

- **Lipase adipocytaire sensible aux hormones**

La libération des acides gras des triacylglycérols stockés dans les adipocytes est une réponse immédiate à une hypoglycémie. Quand la source d'énergie venant de l'alimentation diminue, l'organisme répond à cette déficience par un signal hormonal qui est transmis aux tissus adipeux. L'hormone (glucagon) se lie à son récepteur spécifique et déclenche une cascade d'activations : (1) l'adénylate cyclase membranaire synthétise l'AMPc dans le cytosol, (2) l'AMPc active une lipase kinase qui (3) phosphoryle et active la lipase adipocytaire ; l'action de cette dernière sur des triacylglycérols libère les acides gras qui diffusent dans le sang où ils se lient à l'albumine et sont alors transportés vers les tissus.



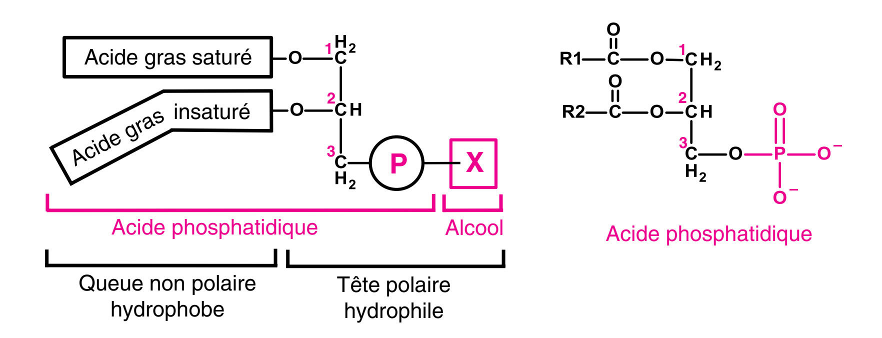
68 Phospholipides, sphingolipides

Mots clés

Lipides, membrane, acide phosphatidique, phospholipides, sphingolipides, sphingomyélines cérébrosides, gangliosides, phosphatidyl, sérine, choline, ethanolamine, glycérol, glycolipides

1. LES PHOSPHOLIPIDES

Les phospholipides sont les principaux lipides des membranes des eucaryotes et des bactéries. Ils dérivent de l'**acide phosphatidique**, constitué d'une molécule de glycérol dans laquelle les hydroxyles des carbones 1 et 2 sont estérifiés par des acides gras de 16 à 20 atomes de carbone. L'acide gras en position 2 est toujours insaturé (Fiche 66). L'hydroxyle en 3 est estérifié par l'acide phosphorique.



Dans les phospholipides, le phosphate en position 3 estérifie une seconde fonction alcool appartenant à un substituant polaire de nature variée (substituant X) comme la sérine, l'éthanolamine, le glycérol ou l'inositol. La nature du substituant X définit le phospholipide. Par exemple, la phosphatidylsérine, lorsque le substituant X est la sérine (abréviation PS), etc. (cf. tableau de la page de droite). Le cardiolipide est un phospholipide particulier formé de l'association de deux molécules d'acide phosphatidique reliées par une molécule de glycérol ; on l'appelle également diphosphatidyl-glycérol.

Le groupement phosphoryl des phospholipides est ionisé. Son pK_a est compris entre 1 et 2 et il porte donc une charge négative aux pH physiologiques. La charge globale de chaque phospholipide dépend de la nature du substituant X. Si ce dernier est neutre, la molécule de phospholipide est chargée négativement (PG, PS, PI). Si le substituant X porte une charge positive, le phospholipide est électriquement neutre (PC, PE).

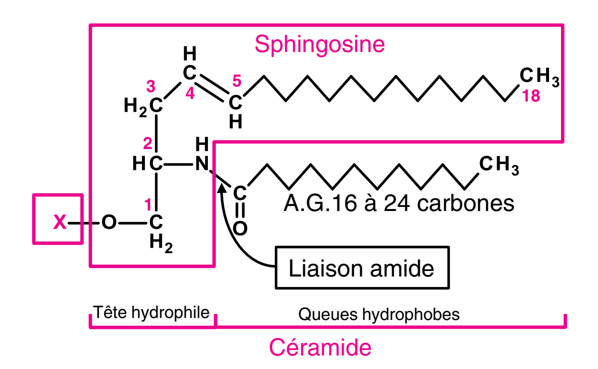
Substituant	Formule de X	Nom du phospholipide
Choline	$-CH_2-CH_2-N^+(CH_3)_3$	Phosphatidyl choline (PC)
Éthanolamine	$-CH_2-CH_2-NH_3^+$	Phosphatidyléthanolamine (PE)
Sérine	$-CH_2-CH(NH_3^+)-COO^-$	Phosphatidylsérine (PS)
Glycérol	$-CH_2-CH(OH)-CH_2-OH$	Phosphatidyl glycérol (PG)
Phosphatidyl glycérol	$-CH_2-CH(OH)-CH_2-O-P(=O)(O^-)-O-CH_2-CH(O-CO-R_2)-CH_2-O-CO-R_1$	Diphosphatidyl-glycérol ou cardiolipide (CL)
Myo-inositol	cycle en C1–C6, OH en 2, 3, 4, 5, 6 (liaison en C1)	Phosphatidyl inositol (PI)

Dans son ensemble la molécule de phospholipide est **amphiphile**, présentant une partie apolaire qui est constituée des chaînes hydrocarbonées des acides gras et une partie polaire, le phosphoglycérol substitué. Ces deux parties sont spatialement bien distinctes. Ces molécules s'associent dans une organisation qui limite au maximum le contact entre les parties apolaires et l'eau. (Fiche 72)

2. LES SPHINGOLIPIDES

Les sphingolipides sont constitués à partir de la **sphingosine** d'où le nom donné à ce groupe. La sphingosine est un alcool aminé à 18 carbones, porteur d'une double liaison *trans* en C4-C5, un groupe aminé en C2 et deux hydroxyles en C1 et C3. La sphingosine est acylée : le carboxyle d'un acide gras saturé s'unit par une liaison amide au NH_2 du C2 de la sphingosine, il se forme ainsi une **céramide** (Cer)**.** Tous les sphingolipides sont construits sur cette unité de base.

C'est le substituant X lié sur l'alcool primaire du carbone C1 qui distingue les familles des sphingolipides : les sphingophosholipides, les cérébrosides, les gangliosides.



- **Les sphingophospholipides**

C'est la seule famille contenant du phosphate. À titre d'exemple la sphingomyéline où le substituant X est la phosphorylcholine. On trouve ces molécules dans toutes les membranes mais elles sont surtout abondantes dans la gaine de myéline qui isole les axones des neurones, d'où leur nom. On trouve d'autres substituants : la phosphoryléthanolamine, le phosphorylglycérol, le phosphorylinositol.

- **Les cérébrosides**

Le substituant X est un ose lié par une liaison β-osidique. Lorsque X est le galactose (Gal) on a des galactosylcérébrosides : Cer-Gal situés surtout dans les membranes des tissus nerveux. Dans les autres tissus, X est le glucose (Glc), ce sont des glucosylcérébrosides : Cer-Glc. Ce sont des glycolipides neutres, simples, abondants sur la surface externe des membranes plasmiques.

- **Les globosides**

Certains glycolipides portent des oligosaccharides plus ou moins complexes, une chaîne de 1 à 5 hexoses neutres où l'on trouve souvent le fructose, le mannose, la glucosamine, la galactosamine.

- **Les gangliosides**

Ils constituent le groupe le plus complexe, le substituant X est une chaîne glycanique ramifiée avec les mêmes oses que les glycolipides neutres, mais aussi la N-acétylgalactosamine (GalNAc) et la N-acétylglucosamine (GlcNAc) ainsi que des molécules d'acide sialique (acide N-acétyl neuraminique ou NeuNac ou NANA) branchées sur la chaîne oligosaccharidique.

La présence du groupe carboxyle sur cette unité de la chaîne, donne aux gangliosides un caractère anionique, ce sont des glycolipides acides qui sont des constituants des membranes biologiques. Tous les sphingolipides sont essentiellement localisés dans la partie externe de la bicouche, les chaînes glycanniques formant un revêtement à la surface des cellules (Fiche 72).

Substituant X	Formule de X	Sphingolipide
Phosphoryl-choline	$-P(=O)(O^-)-O-CH_2-CH_2-NH_3^+$	Sphingomyéline
Glucose	Glc(β 1⟶	Cérébrosides
Disaccharide	Gal(β1⟶ 4) Glc(β1⟶	Globosides
Trisaccharide	Gal(α1⟶ 4) Gal(β 1⟶ 4) Glc(β 1⟶	
Tétrasaccharide	GalNac(β1⟶4)Gal(α1⟶4)Gal(β1⟶4)Glc(β 1⟶	
Saccharide complexe	Gal(β1-3)GalNac(β1- 4)Gal(β1-4) Glc(β1-1)- 3↑ 2NeuNac	Ganglioside GM1

3. LES PHOSPHOLIPASES

Les phospholipides peuvent être hydrolysés par l'action de quatre phospholipases A_1, A_2, C et D, spécifiques des liaisons. Les phospholipases A_1 et A_2 conduisent à l'élimination des acides gras situés en position 1 et 2 et à la formation de lysophospholipides. La phospholipase A_2 libère des acides gras insaturés qui sont utilisés par la cellule, tel l'acide arachidonique qui conduit aux eicosacanoïdes (Fiche 71).

Il existe différentes formes de phospholipases C propres aux phospholipides à inositol. Le phosphatidylinositol bisphosphate (l'inositol porte deux phosphates en 4 et 5) est hydrolysé par une phospholipase C spécifique et conduit à la formation d'un diacylglycérol qui est un activateur de protéines kinases et simultanément d'un inositoltriphosphate IP_3 qui induit la libération de Ca^{++} intracellulaire. Ainsi par l'action des phospholipases, les lipides membranaires peuvent participer à la synthèse de médiateurs lipidiques.

69 Stérols

Mots clés

Stérane, gonane, cholestérol, ergostérol, sitostérol, hopanes

1. NOYAU DE BASE DES STÉROLS ET DES STÉROÏDES

Le **gonane** est le noyau de base des stérols et des stéroïdes. On distingue le **5α-gonane** et le **5β-gonane**, deux diastéréoisomères qui se différencient par la configuration du carbone 5. Ces deux molécules font partie des 64 stéréoisomères du cyclopentanoperhydrophénanthrène ($C_{17}H_{28}$), un alcane tétracyclique que l'on appelle aussi stérane. Ces molécules sont constituées de quatre cycles accolés : A, B, C de type cyclohexane, et D de type cyclopentane, et comptent six centres chiraux (astérisques), d'où le nombre de stéréoisomères (2^6=64, cf. Fiche 63). Dans les formules développées du gonane, comme dans celles des stérols et des stéroïdes, lorsqu'une liaison entre un carbone du noyau et un atome extérieur est orientée vers l'observateur, elle est notée « β », l'atome extérieur étant situé « au-dessus » de la molécule ; une liaison est notée « α » lorsque qu'elle relie un carbone du noyau à un atome extérieur situé « en dessous » de la molécule.

Stérane

5α-Gonane

5β-Gonane

Ces molécules sont des structures rigides où les trois cycles hexagonaux se stabilisent sous la forme « chaise » (Fiche 63). Les quatre cycles du 5α-gonane se disposent dans un plan moyen comme, dans leur grande majorité, les stérols et les stéroïdes. Dans la molécule de 5β-gonane, les atomes 2, 3 et 4 du cycle A sont rejetés sous le plan moyen défini par les cycles B, C et D ; c'est une caractéristique des acides biliaires (Fiche 70).

Vues en perspective du 5α-gonane (à gauche) et du 5β-gonane (à droite).

Les formules des stérols et des stéroïdes se déduisent de ces deux noyaux par de nombreuses modifications et substitutions ; lorsqu'une liaison entre un carbone du noyau et un substituant se positionne dans le plan moyen, on parle d'un substituant « **équatorial** », alors que si cette liaison est perpendiculaire au plan moyen on parle d'un substituant « **axial** »

2. LE CHOLESTÉROL

Le cholestérol se déduit du gonane par une modification et quatre substitutions :

- une double en liaison en 5-6 (Δ^5) qui déforme le cycle A et impose au cycle B une conformation « demi-chaise ». Noter aussi la disparition du centre chiral en 5 ;
- un groupe hydroxyle équatorial, en 3β ;
- deux groupes méthyle axiaux, 18 en 13β et 19 en 10β ;
- en 17β, une chaîne saturée à 8 atomes de carbone (2-méthyl heptane).

Formule développée et vue en perspective de la molécule de cholestérol.

Le cholestérol possède 8 carbones asymétriques (carbones 3, 8, 9, 10, 13, 14, 17, et 20) ; il existe donc en principe $2^8 = 256$ stéréoisomères, mais un seul est rencontré dans la nature. La chaîne latérale en 17β possède une souplesse de conformation en raison des possibilités de rotation autour de l'axe des liaisons σ (Fiche 7).

3. PLANTES ET CHAMPIGNONS

Les membranes des cellules d'algues et des plantes sont constituées d'une manière similaire à celles des animaux, mais on y trouve des stérols typiques du règne végétal, les **phytostérols** (sitostérol (C29), campestérol (C28), stigmastérol (C29), etc.). Ces molécules sont très voisines du cholestérol ; par exemple, le sitostérol ne se différencie du cholestérol que par la présence d'un groupe éthyle en C24.

Sitostérol

Ergostérol

Les membranes des champignons et des levures renferment des stérols spécifiques, dont le plus répandu est l'ergostérol (C28) qui possède deux doubles liaisons supplémentaires, la première en 7, conjuguée avec la liaison en 5 dans le cycle B et la seconde en 22 sur la chaîne flexible qui en outre porte un groupe méthyle en C24.

4. PROCARYOTES

Les procaryotes (bactéries et archaea) sont dépourvus de cholestérol ; on trouve dans les membranes bactériennes des **hopanes**, molécules polycycliques rigides qui jouent des rôles comparables aux rôles joués par les stérols chez les eucaryotes.

70 Stéroïdes

Mots clés

Hormones stéroïdes, vitamine D, sels biliaires

1. OBJECTIF

Montrer que le cholestérol est également le précurseur d'hormones stéroïdes, mais aussi de la vitamine D et des acides biliaires. La molécule de cholestérol subit un raccourcissement de la chaîne latérale et des modifications du squelette.

2. LES HORMONES CORTICOSTÉROÏDES

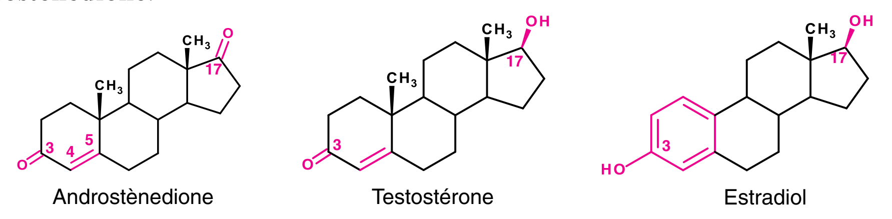
Les glandes corticosurrénales sont le siège de la formation de la progestérone (C21) précurseur des hormones **glucocorticoïdes** tel le **cortisol** et une hormone **minéralocorticoïde**, l'**aldostérone**.

Progestérone   Cortisol   Aldostérone

- Le cortisol induit la néoglucogénèse à partir d'acides aminés glucoformateurs. Dans le tissu adipeux les glucocorticoïdes stimulent la lipolyse.
- L'aldostérone contrôle la balance K^+, Na^+/eau ; elle augmente la réabsorption rénale du sodium qui entraîne une rétention d'eau.

3. HORMONES SEXUELLES

Les hormones androgènes et œstrogènes sont synthétisées dans les glandes sexuelles à partir de la progestérone. On obtient un intermédiaire aux propriétés androgènes : l'**androstènedione**.



Androstènedione   Testostérone   Estradiol

- La réduction du carbonyle en C17 conduit à la **testostérone**. La testostérone régule la différenciation puis la maturation des organes génitaux mâles, l'apparition des caractères sexuels secondaires et la production des spermatozoïdes.
- L'étape décisive de la formation des hormones femelles est la transformation du cycle A en noyau aromatique, par l'intervention d'une aromatase. C'est ainsi que la testostérone se transforme en **estradiol**, principale hormone sexuelle femelle.

4. VITAMINE D

La **vitamine D** peut être obtenue par l'alimentation ou synthétisée à partir d'un dérivé du cholestérol le **7-déhydrocholestérol**. Dans la peau, cette molécule subit une photolyse par les rayons ultra-violets : le cycle B est ouvert au niveau de la liaison 9-10. Cette vitamine D_3, inactive (également nommée **cholécalciférol**) est transformée en **calcitriol**, la vitamine active après deux hydroxylations, dans le foie en C25 puis dans le rein en C1**.** Le rôle principal de la vitamine D est d'augmenter l'absorption intestinale du Ca^{2+} qui est finalement capté par les os.

7 Déhydrocholestérol

hν (U.V.)
(peau)

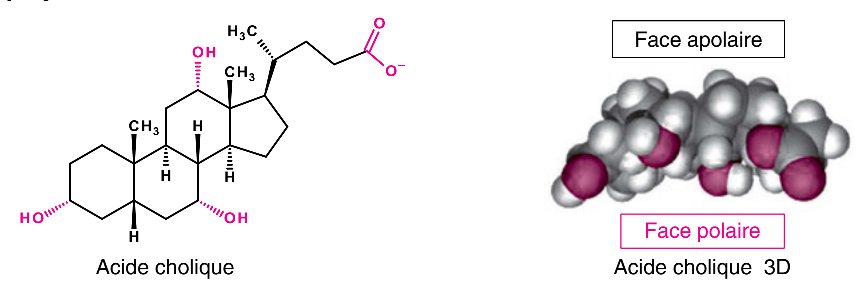
Vitamine D_3
(cholécalciférol)

+ 2 –OH
(foie, puis rein)

Calcitriol

5. LES ACIDES BILIAIRES

Le principal acide biliaire est l'**acide cholique** synthétisé à partir du cholestérol : saturation de la double liaison 5-6, hydroxylations en 7 et 12, oxydation du C24 en acide carboxylique.



Acide cholique

Acide cholique 3D

Les acides biliaires sont la seule voie d'excrétion du cholestérol, ils sont synthétisés dans le foie et sécrétés dans l'intestin grêle sous forme conjuguée avec la **glycine** (**acide glycocholique**) ou la **taurine** (**acide taurocholique**). Ce sont des molécules amphiphiles : elles présentent une face polaire et une face apolaire (cf. le modèle 3D de l'acide cholique). Cette propriété leur confère un pouvoir émulsifiant qui facilite l'action des lipases intestinales.

71 Prostaglandines, thromboxanes, leucotriènes

Mots clés

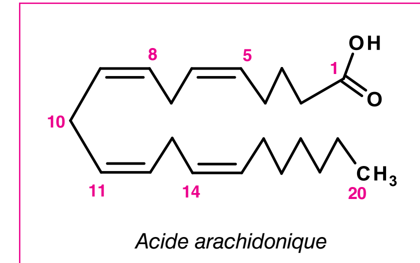
Eicosanoïdes, prostaglandines, thromboxanes, leucotriènes, acide arachidonique

1. GÉNÉRALITÉS

Les **prostaglandines**, les **thromboxanes** et les **leucotriènes** sont des lipides simples de la famille des **eicosanoïdes** ainsi nommés parce qu'ils contiennent tous 20 carbones (du grec *eikosi*, vingt).

Ces molécules sont synthétisées à partir de trois acides gras polyinsaturés à 20 carbones :

- C20 :3$\Delta^{8,11,14}\omega 6$ (**eicosatriénoate**),
- C20 :5$\Delta^{5,8,11,14,17}\omega 3$ (**eicosapentaénoate**)
- C20 :4$\Delta^{5,8,11,14}\omega 6$ (**eicosatétraénoate**) ou **acide arachidonique** (AA) (Fiche 66).



Acide arachidonique

2. PROSTAGLANDINES

Les prostaglandines (**PG**) comportent un cycle à 5 carbones (cyclopentane) établi par une liaison entre les atomes de carbones 8 et 12 de l'acide arachidonique, et deux chaînes R1 et R2 portant des doubles liaisons et, toujours, un hydroxyle OH en C15 en α, par exemple, la **prostaglandine E_1** :

Les prostaglandines ont pour symbole PG suivi d'une lettre de série : A, E, F, etc. selon la nature et la position des groupements oxygénés sur le cycle ; ainsi la série E possède un groupe cétone en C9 et OH en C11 du cycle. Les prostaglandines de la série I sont également nommées **prostacyclines**.

A B D E F I

Selon le nombre de doubles liaisons portées par l'acide gras précurseur, on a trois groupes de prostaglandines : 1, 2 et 3 caractérisés par le nombre de doubles liaisons restant dans leurs chaînes latérales par exemple : PG_1, PG_2, PG_3. La prostaglandine PGH_2, issue de l'acide arachidonique porte 2 doubles liaisons ; c'est le précurseur de toutes les PG_2, dont la PGE_2, et des thromboxanes.

PGH_2 *PGE_2*

3. THROMBOXANES

Les thromboxanes (TX) sont ainsi appelés parce qu'on les a trouvés dans les thrombocytes (plaquettes sanguines responsables des thromboses).

Les thromboxanes, dérivés de PGH_2, ont un cycle à six sommets. Le cyclopentane est interrompu par un atome d'oxygène (cycle oxane) introduit entre les C11 et C12. Ils ont un OH en C15 et deux doubles liaisons sur les chaînes latérales.
On connaît 2 séries : TXA ayant un second pont époxy à l'intérieur du cycle entre C9 et C11 et TXB qui possède une fonction alcool OH en C9 et une fonction **hémi-acétal** C11.

TXA_2 *TXB_2*

4. LEUCOTRIÈNES

Ces molécules ont été isolées des leucocytes d'où *leuco* et ils ont tous 3 doubles liaisons conjuguées, d'où « triène ». Les leucotriènes (LT) dérivent de l'acide arachidonique (AA) par l'action de la 5- lipo-oxygénase (l'une des 15 lipo-oxygénases connues). Cette enzyme fixe un groupe peroxyle – O-O-H (hydroperoxyde) en position 5, 12 ou 15 ce qui déplace et modifie l'isomérie des doubles liaisons (*trans* en dents de scie et *cis* en trapèze).

Les leucotriènes n'ont pas de cycle. On distingue les séries A, B et les séries C, D, E. Ces trois dernières, comportant des acides aminés sont appelées peptidoleucotriènes : le carbone 6 du LTC_4 est lié au glutathion (γ-glutamyl-cystéyl-glycine) par une liaison thioéther ; la perte du résidu γ-glutamyl conduit au LTD_4, et la perte de la glycine conduit finalement au LTE_4 qui ne garde que la cystéine.

LTC_4 ***LTE_4***

5. RÔLES BIOLOGIQUES

Les prostaglandines, thromboxanes et leucotriènes sont des molécules régulatrices qui ont des activités physiologiques et pharmacologiques importantes.

Elles exercent une **action autocrine**, action dans la cellule productrice, et une action au voisinage immédiat de leur lieu de synthèse dans différents tissus. Elles sont considérées comme des hormones locales utilisant des récepteurs liés à des protéines G (Fiche 37) pour déclencher leurs effets biochimiques. Ces molécules ont une action à très faible concentration, à faible distance et à demi-vie courte. Elles sont rapidement dégradées.

Elles agissent essentiellement sur les muscles lisses des vaisseaux sanguins, des bronches, dans l'utérus et sur les plaquettes sanguines.

Les TX libérées par les **plaquettes sanguines** causent la vasoconstriction et l'agrégation des plaquettes, les PGI_2 produites par la paroi des vaisseaux sanguins inhibent l'agrégation, elles ont donc des effets antagonistes. PGI_3 est un puissant anti-agrégation et TX_3 a un faible pouvoir agrégatif.

Dans les **vaisseaux sanguins**, PGE_2, PGD_2 sont vasodilatateurs mais PGI_2 est vingt fois plus actif et TXA_2 a une action inverse (vasoconstricteur).

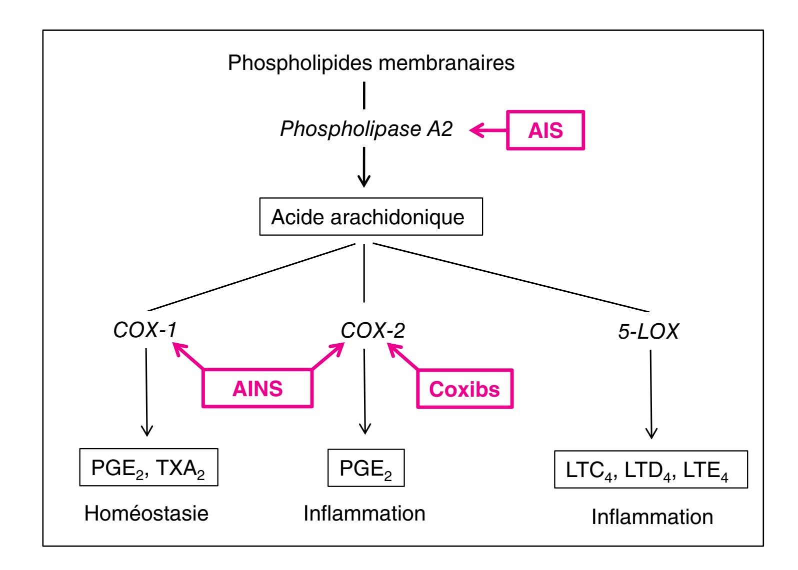
Dans les **bronches** PGE_2 et PGI_2 sont bronco-dilatateurs et TXA_2, PGF_2, LTC_4 constricteurs.

Les PG contribuent à l'induction du travail de l'accouchement ainsi PGE_2 provoque les contractions utérines mais relaxe l'utérus vide.

Un mélange de leucotriènes C_4, D_4, E_4 forme la **substance SRS-A** (*Slow Reacting Substance of Anaphylaxis*) qui est un puissant bronchoconstricteur. Ces leucotriènes, avec la LTB_4, augmentent la perméabilité vasculaire et interviennent dans la défense de l'organisme en attirant et en activant les leucocytes dans les sites inflammatoires.

6. RÉSUMÉ DE LA BIOSYNTHÈSE ET DES ACTIONS BIOLOGIQUES

L'acide arachidonique (AA) subit soit l'action des **cyclo-oxygénases** (isoformes **COX-1** et **COX-2**) pour donner les prostaglandines du goupe 2 et les thromboxanes, soit l'action des **lipo-oxygénases** (essentiellement l'isoforme **5-LOX**) pour donner les leucotriènes :



Les **anti-inflammatoires non-séroïdiens** (**AINS**) comme l'aspirine, la phénylbutazone ou l'indométhacine inhibent les activités cyclo-oxygénases des deux COX. L'aspirine a pour effet d'inhiber irréversiblement ces deux enzymes (voir paragraphe suivant) ; à l'effet anti-inflammatoire obtenu par l'inhibition de la COX-2, peuvent s'ajouter des effets secondaires dus à l'élimination de l'activité de la COX-1 : saignements, ulcères, etc. Les **coxibs** (célécoxib, rofécoxib, étoricoxib) inhibent spécifiquement la COX-2 ; ils éliminent pratiquement les effets indésirables des AINS classiques, mais peuvent en créer d'autres, plus inquiétants : le **rofécoxib** (**Vioxx**®), a été retiré du marché en 2004 car il provoquait des accidents cardio-vasculaires.

Les corticostéroïdes, **anti-inflammatoires stéroïdiens** (**AIS**) inhibent la transcription du gène de la **phospholipase A$_2$** ; il agissent donc sur la production des eicosanoïdes, en général.

7. ACTION DE L'ASPIRINE SUR L'ACTIVITÉ DES COX

L'aspirine (ou acide acétyl salicylique) inhibe irréversiblement l'activité cyclooxygénase de la COX-1 et de la COX-2. La molécule d'**acide acétyl salicilique** est reconnue comme un substrat ce qui conduit à l'acétylation de la fonction alcool de la sérine (516) qui fait partie du site actif et donc à l'inactivation de l'une comme de l'autre de ces deux enzymes.

HO–Ser$_{516}$ COX + Aspirine → O–Ser$_{516}$ (O=C–CH$_3$) COX + Acide salicilique

Aspirine — *COX-1 et COX-2 actives* — *COX-1 et COX-2 inactives* — *Acide salicilique*

En raison de ce mécanisme particulier, l'aspirine est qualifié d'**inhibiteur suicide** des cyclo-oxygénases (Fiche 60).

72 Membranes biologiques

Mots clés

Membrane, lipides, protéines, glycolipides, glycoprotéines, asymétrie, flippase

1. CONSTITUTION DES MEMBRANES

Les membranes biologiques sont constituées de lipides organisés en deux feuillets accolés, ou bicouches de lipides auxquelles sont associées des protéines. Des glucides se lient aux protéines ou aux lipides.

2. LES LIPIDES MEMBRANAIRES

Les lipides membranaires sont essentiellement des phospholipides et les sphingolipides, ce sont des **molécules amphipatiques** ou **amphiphiles –** elles possèdent une partie hydrophile et une partie hydrophobe (Fiche 68). Dans la bicouche de la membrane, les lipides se rassemblent en joignant leurs parties hydrophobes au cœur de la membrane, les têtes chargées se disposent de part et d'autre au contact des milieux aqueux, cytosol et milieu extracellulaire. Le cœur hydrocarboné d'environ 3 nm d'épaisseur est limité des deux côtés par une interface de 1,5 nm d'épaisseur contenant les groupements de tête. On distingue un feuillet externe (Fe) et un feuillet interne (Fi) côté cytosol. La bicouche lipidique est extraordinairement imperméable aux substances ioniques et polaires, elle constitue une véritable barrière. Les molécules de cholestérol s'intercalent entre les phospholipides, la fonction alcool à la surface, en contact avec les milieux aqueux.

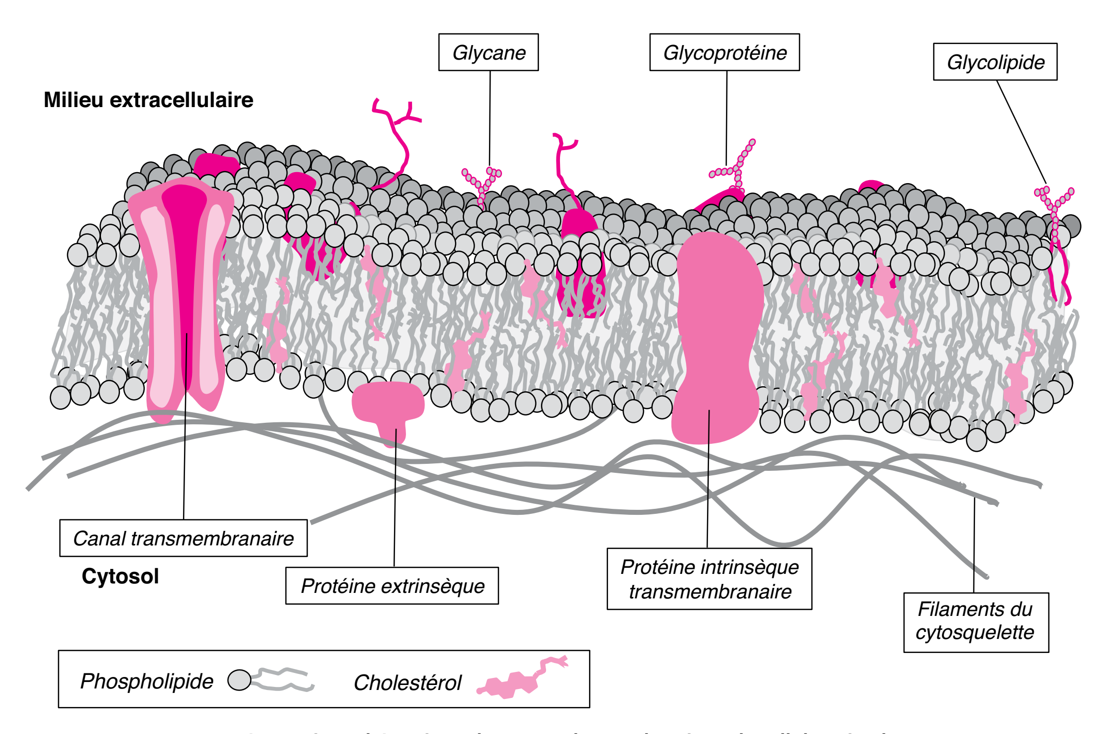
3. LES PROTÉINES MEMBRANAIRES

Les protéines membranaires sont associées à la matrice lipidique ; elles assurent les fonctions spécifiques de la membrane, ce sont des enzymes, des transporteurs (Fiche 72), des récepteurs etc. Selon leur degré d'association à la membrane on les classe **protéines extrinsèques** ou **intrinsèques**.

- Les protéines extrinsèques (Pe) ou périphériques, sont faiblement liées à la surface externe ou interne de la membrane d'où on les libère par des techniques douces, modifiant le pH ou la force ionique. Libérées de la membrane, elles se comportent comme des protéines globulaires hydrosolubles et facilement purifiées. Les protéines extrinsèques se lient à la surface avec les groupements de tête des lipides ou avec les protéines intrinsèques par des interactions électrostatiques ou des liaisons hydrogène.
- Elles peuvent être liées par covalence à un acide gras tel l'acide palmitique qui établit une liaison thioester avec la chaîne latérale d'un résidu cystéine de la protéine. L'acide gras s'intercale dans le feuillet, c'est un point d'ancrage membranaire pour la protéine. La protéine portée par l'acide palmitique se situe exclusivement sur le côté cytoplasme.
- Les protéines intrinsèques (Pi) sont intégrées au sein de la bicouche de lipides. Certaines sont exposées d'un seul côté de la membrane, elles ont une partie implantée

dans la bicouche et une partie en surface au contact du cytosol ou du milieu extra cellulaire. D'autres protéines traversent perpendiculairement au plan de la membrane, de part en part, c'est pourquoi on les appelle **transmembranaires** (TM) ; elles sont très souvent en hélice α dans la partie au contact des chaînes hydrocarbonées, ce segment comporte essentiellement des résidus hydrophobes Ile, Leu, Val, Phe (Fiche 34). On ne connaît pas de protéines complètement enfouies, elles sont toutes partiellement exposées à un environnement aqueux.

- Les protéines intrinsèques sont amphiphiles : les parties situées dans l'espace lipidique non polaire ont des résidus de surface hydrophobes, alors que les segments qui sont au contact de l'environnement aqueux présentent des résidus polaires.



Représentation schématique d'une membrane plasmique de cellule animale.

4. LES GLUCIDES

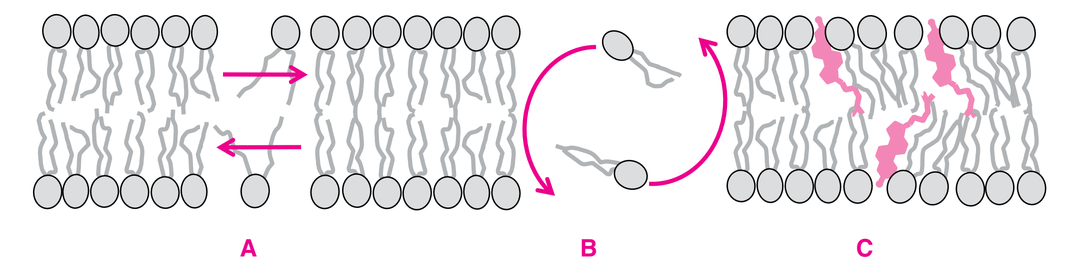
Ce sont des chaînes oligosaccharidiques liées de façon covalente aux protéines et/ou aux lipides. Ces chaînes sont toujours situées à la surface externe de la membrane plasmique.

La surface externe des cellules eucaryotes est tapissée de glucides complexes qui sont les constituants des **glycoprotéines** et des **glycolipides** de la membrane plasmique. Ils forment un revêtement : le **glycocalyx**, qui joue un grand rôle dans les processus de reconnaissance cellulaire, de capteur de virus et de bactéries. Sur les érythrocytes c'est dans ces glycannes que se situent les systèmes des **groupes sanguins** A, B, O et Rhésus.

5. LES PROPRIÉTÉS DES MEMBRANES

Les membranes biologiques sont des structures fluides par la mobilité de leur molécules de lipides et asymétriques par leur distribution hétérogène. La fluidité est conditionnée par la température et dépend aussi de la composition lipidique.

- Dynamique de la bicouche lipidique : la bicouche est un fluide dans lequel les chaînes hydrocarbonées font l'objet de mouvements fluctuants rapides qui mettent en jeu les rotations autours des liaisons C-C.
- Les lipides sont mobiles dans le plan d'un feuillet c'est la diffusion latérale. Ils peuvent se déplacer d'un feuillet à l'autre c'est la diffusion transversale ; ce basculement appelé **flip-flop** est lent car la tête polaire doit se débarrasser de son environnement aqueux avant de traverser le cœur hydrophobe de la bicouche. Ces déplacements sont catalysés par des flippases. Ces enzymes hydrolysent l'ATP et utilisent l'énergie libérée pour transporter les phospholipides à travers la bicouche depuis le feuillet où ils sont moins concentrés vers l'autre feuillet ce qui établit une répartition asymétrique des phospholipides.



Diffusion passive des phospholipides et des sphingolipides dans une membrane.
A : diffusion latérale rapide ; B : flip-flop lent ; C inhibition de la diffusion latérale par le cholestérol (couleur) associé aux chaînes d'acides gras des phospholipides et des sphingolipides.

- Les molécules de cholestérol, par leur noyau rigide, s'opposent au tassement des chaînes d'acides gras et fluidifient la structure, mais gênent les rotations C-C et la diffusion latérale.
- Des protéines peuvent diffuser dans la membrane fluide, ce processus est ralenti par abaissement de la température ; 30 à 80 % des protéines diffusent latéralement à une vitesse de 0,3 à 2 µm par minute. Certaines protéines sont ancrées au cytosquelette et immobiles.
- La proportion en protéine est directement liée au rôle biologique que joue la membrane Les proportions protéine/lipide sont très variables : par exemple la myéline qui joue le rôle d'isolant passif, a un contenu en protéines de 18 %.
- Les membranes des compartiments intracellulaires ont les mêmes constituants que la membrane plasmique dans des proportions très variables qui sont fonction du rôle de la membrane. La membrane interne des mitochondries est très riche en protéines (75 %),au nombre desquelles on trouve les transporteurs d'électrons de la chaîne respiratoire ; cette membrane n'a pas de cholestérol et c'est la seule membrane riche en cardiolipine.

- Les **radeaux lipidiques** (*lipid rafts*) sont des microdomaines de la membrane plasmique. Ils se caractérisent par leur richesse en cholestérol et en sphingolipides, d'où leur faible densité, et par leur insolubilité dans les détergents doux (le nom de *detergent-resistant membrane*, ou DRM, leur est parfois attribué). Ce sont des structures rigides dans la membrane qui constituent des zones privilégiées pour l'activité de nombreuses protéines, pour la libération des neurotransmetteurs et l'endocytose.

6. LES FONCTIONS DES MEMBRANES

Les membranes assurent de multiples fonctions :

- Délimitation et isolement des cellules et des organites, séparation des milieux ;
- Transport contrôlé de substances, ce qui contribue à l'homéostasie : nutriments, produits des biosynthèses, déchets du catabolisme ;
- Catalyse enzymatique, par exemple la biosynthèse des lipides dans la membrane du réticulum endoplasmique lisse ;
- Ancrage des ribosomes, site de la synthèse des protéines (réticulum endoplasmique rugueux) ;
- Transduction d'énergie : Transport d'électrons au niveau de la chaîne respiratoire, génération de la force proton-motrice, formation d'ATP ; génération d'énergie chimique à partir de l'énergie lumineuse par les centres chlorophylliens.
- Transmission des influx nerveux le long des axones (potentiel d'action) ;
- La réception de signaux extracellulaires et leur transduction vers l'intérieur, mais aussi l'émission de signaux (par exemple au niveau des synapses) ;
- Interactions avec les autres cellules pour former un tissu et association à la matrice extracellulaire ;
- Internalisation de macromolécules par le phénomène d'**endocytose**, externalisation par **exocytose** ;
- Source de médiateurs chimiques (par exemple, les eicosanoïdes, via l'action de la phospholipase A2 et la libération d'acide arachidonique cf. Fiche 71).

73 Transport membranaire

Mots clés

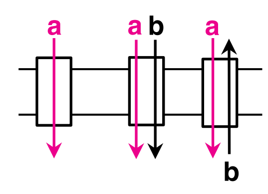
Transport actif, transport passif, transporteurs, canaux, gradient ionique, protéines membranaires

1. OBJECTIF

Dans les membranes, le caractère hydrophobe du cœur de la bicouche lipidique, (Fiche 72) constitue une barrière imperméable qui s'oppose au passage des molécules hydrophiles. Cependant il est vital pour la cellule de puiser de l'extérieur les ions et molécules nécessaires pour les biosynthèses et la production d'énergie ; elle doit aussi exporter des produits de biosynthèse ainsi que les déchets de son métabolisme. Certaines petites molécules non chargées traversent la membrane par simple diffusion (par exemple, CO_2). Pour la plupart des molécules et des ions, la membrane contient des **protéines intrinsèques** spécialisées qui permettent soit un passage passif facilité, soit un transport actif.

2. TRANSPORT PASSIF FACILITÉ

Des protéines membranaires facilitent la diffusion passive de molécules dans le sens de leur gradient depuis les fortes concentrations vers les plus faibles. Elles sont appelées transporteurs, elles reconnaissent spécifiquement la molécule et la transfèrent au travers de la membrane.



- **L'uniport du D-glucose**

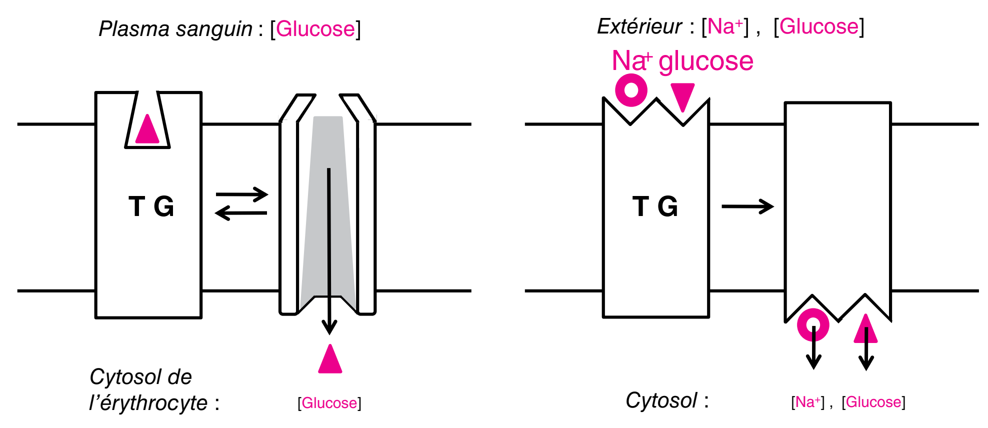
La membrane des érythrocytes humains contient un **transporteur du glucose** (TG). C'est une glycoprotéine qui possède un site de fixation du D-glucose. Quand le glucose se lie au site sur la face extracellulaire, le transporteur subit un changement de conformation ce qui provoque un déplacement du glucose au travers de la membrane. Le glucose se dissocie de son site dans le cytosol. On a ici un transport facilité d'une molécule, c'est un uniport.

- **Le symport glucose/Na^+**

Dans les cellules épithéliales de la bordure en brosse de l'intestin, le glucose est pompé à partir du **lumen**, grâce à l'entrée simultanée de Na^+ dans le sens de son gradient de concentration.

Ce transfert concerté de deux substances, dans le même sens est appelé symport ou transport couplé. C'est le gradient d'ions Na^+ qui sert de force motrice au transport du glucose.

Le **transporteur** est une protéine glycosylée (662 résidus) qui comprend 12 hélices α transmembranaires. La fixation de Na^+ augmente considérablement l'affinité de la protéine pour le glucose. La fixation du glucose induit un changement de conformation de la protéine et dans ce second état, les 2 sites occupés par le glucose et Na^+ se retrouvent sur la face interne de la membrane ; le Na^+ et le glucose sont alors libérés dans le cytoplasme.



Transporteurs de glucose (TG) :

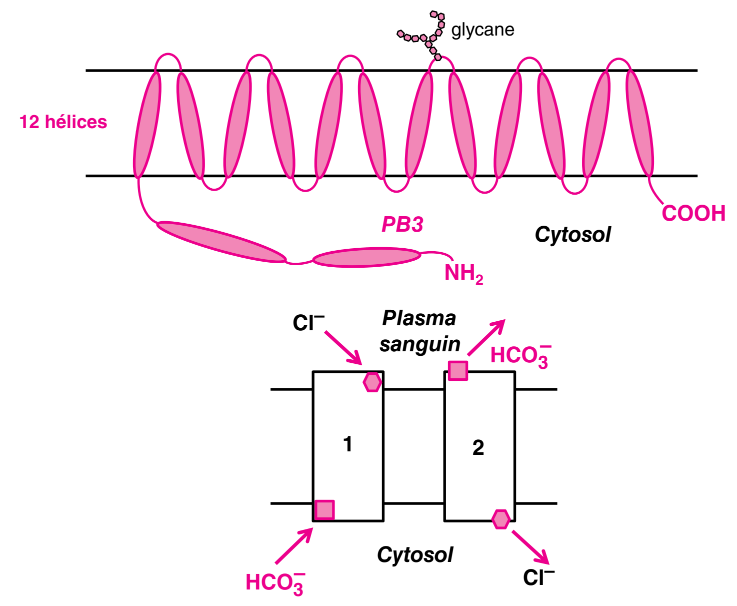
Uniport de l'érythrocyte

Symport des cellules de la bordure en brosse de l'intestin

- **Antiport ou échangeur**

La membrane des érythrocytes renferme un transporteur qui échange des ions bicarbonate HCO_3^- contre des ions chlorure Cl^-.

L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide sépare les protéines qui se présentent à la fin de l'opération sous la forme d'une succession de bandes. La bande n°3 des protéines de membranes d'hématies est constituée de l'échangeur bicarbonate/chlorure ; on la nomme « bande3 » ou PB3. C'est une glycoprotéine formée d'un domaine transmembranaire d'acides aminés hydrophobes en douze hélices α, reliées par des boucles intra- et extracellulaires dont une porte un glycanne. Le domaine NH_2 terminal situé dans le cytosol est ancré au cytosquelette.



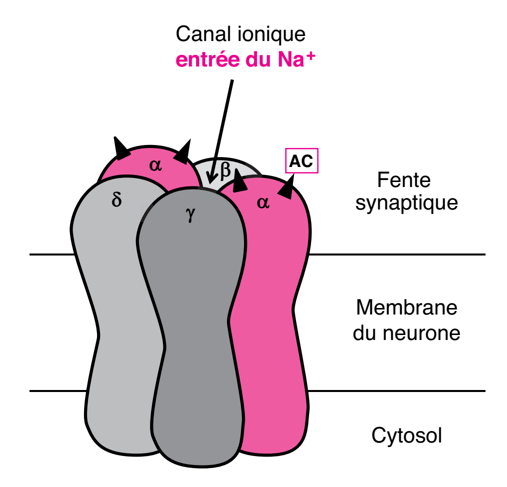
Antiport HCO_3^-/Cl^- de la membrane érythrocytaire

Le dioxyde de carbone CO_2, relargué dans le plasma sanguin par les tissus, entre par simple diffusion dans l'érythrocyte ; par l'action de l'anhydrase carbonique avec H_2O, CO_2 donne HCO_3^- et un proton. HCO_3^- et Cl^- se lient à leurs sites respectifs sur l'échangeur (conformation 1). On assiste alors à un changement de conformation de la protéine (conformation 2) et, simultanément, HCO_3^- sort et Cl^- entre dans la cellule. Ce processus obligatoire d'échange en sens inverse a donné à ce transport le nom d'antiport. Dans la membrane plasmique des eucaryotes et des procaryotes on trouve des antiports Na^+/H^+ qui contribuent au maintien du pH intracellulaire.

- **Le transport facilité par un canal**

Il existe une différence entre un canal et un transporteur. Dans les conditions physiologiques le transporteur est continuellement fonctionnel. Le canal oscille entre un état soit fermé, non fonctionnel, soit ouvert et donc fonctionnel.

Le canal récepteur de l'acétylcholine est impliqué dans la neurotransmission. Son ouverture est contrôlée par la fixation d'un ligand extracellulaire, l'acétylcholine (AC) qui est un neurotransmetteur libéré par le neurone pré-synaptique au niveau d'une synapse.



Le récepteur de l'acétylcholine est situé dans la membrane du neurone postsynaptique. Le canal est une protéine pentamère $\alpha_2\beta\gamma\delta$, dont chaque sous-unité comprend quatre hélices α transmembranaires.

À l'arrivée de l'influx nerveux, le neurone pré-synaptique libère l'acétylcholine dans la fente synaptique. Là, 2 molécules d'acétylcholine se lient avec une grande affinité sur chacune des deux sous-unités α ce qui provoque l'ouverture du canal et l'entrée intense et rapide d'un flux d'ions Na^+ (10^8 ions/sec), puis la fermeture du canal.

Le mouvement d'ions (entrée de charges positives Na^+) qui résulte de l'ouverture du canal cationique conduit à la dépolarisation de la membrane post-synaptique (signal électrique) qui se propage dans le neurone post-synaptique.

3. TRANSPORT ACTIF ATP-DÉPENDANT

Au cours du transport actif, les molécules sont transportées depuis les faibles concentrations vers les fortes concentrations c'est-à-dire contre leur gradient. Pour que ce processus endergonique soit mené à son terme, il doit être couplé à une réaction exergonique de

manière à ce que le bilan de ces deux processus se solde par une perte d'enthalpie libre (réaction globale exergonique, cf. fiches 25, 28, 32, 33).

La cellule animale doit maintenir une concentration élevée de K^+ (140 mM) et faible de Na^+ (15 mM), en opposition aux concentrations respectives de ces ions dans le milieu extracellulaire, 5 et 145 mM. Ces gradients ioniques sont maintenus par la **Na^+K^+ATPase**, une pompe qui couple l'hydrolyse de l'ATP au transport de 3 Na^+ du cytoplasme vers le milieu extérieur et 2 K^+ du milieu extérieur vers le cytoplasme.

La Na^+K^+ATPase est une protéine transmembranaire de type $\alpha_2\ \beta_2$. La sous unité α est constituée de 8 segments transmembranaires en hélice α et son domaine cytoplasmique, de grande taille, détient l'activité enzymatique d'hydrolyse de l'ATP. La sous-unité α est le principal acteur du système. La sous-unité β est formée de 4 hélices α et d'un grand domaine extracellulaire avec 2 chaînes oligosaccharidiques ; on ignore sa fonction.

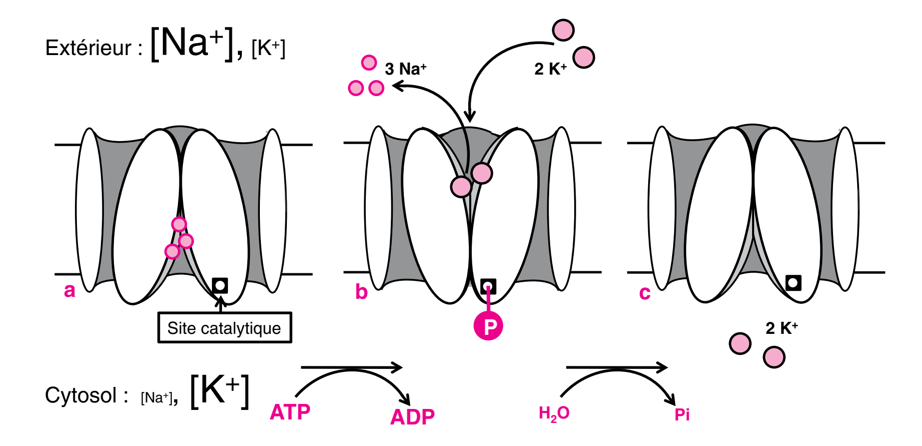
Dans la cellule, le transfert des ions peut se représenter en 3 étapes :

(a) la fixation de $3Na^+$ dans le site de liaison de haute affinité sur la sous-unité α induit la fixation de l'ATP. Il se forme un complexe fugace [Enz-ATP-$3Na^+$]. Le Na^+ déclenche l'activité ATPase ce qui provoque la phosphorylation du β-carboxylate d'un résidu aspartate de l'enzyme par l'ATP du cytosol. On obtient un complexe [Enz ~P-$3Na^+$], une conformation riche en énergie.

(b) le complexe prend une conformation de faible énergie [Enz-P] et Na^+ perd son affinité pour l'enzyme. Cette conformation extériorise le site des $3Na^+$ qui sont libérés dans le milieu extracellulaire. 2 K^+ extracellulaires se lient à α

(c) la présence d'ions K^+ entraine l'hydrolyse du groupement carboxyle-phosphate. L'enzyme déphosphorylée revient à sa conformation initiale qui présente une faible affinité pour K^+, et libère les 2 ions K^+ dans le cytosol.

C'est la fixation du Na^+ qui déclenche le processus, et l'ATP ne phosphoryle la Na^+K^+ATPase qu'en présence de Na^+.



Les stéroïdes cardiotoniques tels la digitaline, extraite des feuilles de la digitale pourpre, et l'ouabaïne, extraite du strophante glabre (plante du Gabon), se lient sur la partie extracellulaire de la Na^+K^+ATPase, et inhibent la déphosphorylation et la fixation des ions K^+.

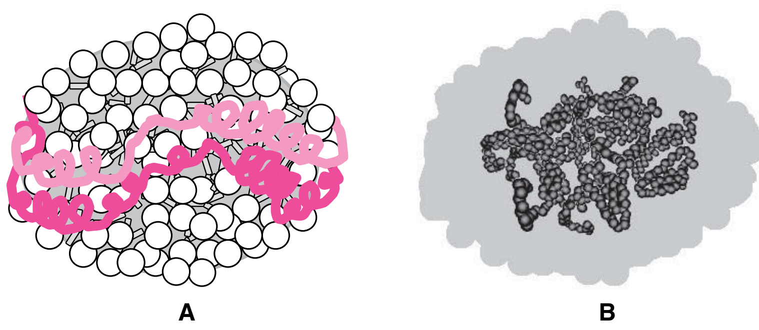
74 Lipoprotéines

Mots clés
Lipides, transport, cholestérol, apoprotéines, VLDL, IDL,LDL, HDL, chylomicrons

1. CONSTITUTION DES LIPOPROTÉINES

Les lipides, insolubles en milieux aqueux, s'associent à des protéines par interactions non covalentes pour former des lipoprotéines.

Le cœur d'une particule de lipoprotéine est constitué de lipides hydrophobes : **esters de cholestérol** (CE) et **triacylglycérols** (TG) (Figure B). Dans la périphérie de la particule on trouve des molécules de **phospholipides** (PL), de **sphingolipides** (SL) et de **cholestérol** dont les groupes polaires pointent en direction du milieu aqueux (figure A). Une ou plusieurs protéines spécifiques appelées **apolipoprotéines** (ou **apoprotéines**) encerclent et stabilisent la particule lipidique ; ces protéines sont éventuellement reconnues par des récepteurs tissulaires spécifiques.



Représentation schématique d'une lipoprotéine de type HDL (simulation).
Deux molécules d'apolipoprotéine A1 partiellement en hélice alpha (couleur) ceinturent une particule lipidique où les phospholipides et le cholestérol libre se trouvent à la périphérie (disques et bâtonnets, fig. A) ;
les molécules d'acyl-cholestérol, apolaires, constituent le cœur de la particule, fig.B.

2. CLASSES DE LIPOPROTÉINES

Les lipoprotéines sont classées par densité croissante. Les lipides sont moins denses que les protéines, aussi plus sa teneur en lipides est élevée plus la densité d'une lipoprotéine est faible. On reconnaît cinq catégories de lipoprotéines qui se distinguent les unes des autres à la fois par leur densité et par leurs rôles physiologiques :

- **Chylomicrons** ; constitués des lipides issus de l'alimentation, essentiellement des triglycérides et du cholestérol : ils sont transportés par le sang de l'intestin grêle vers le foie et les tissus ;
- **VLDL** (*very low density lipoproteins*) : lipoprotéines de très faible densité ; elles véhiculent les triacylglycérols, le cholestérol et des esters de cholestérol, du foie, site de leur formation, vers les autres lipoprotéines du circuit sanguin ;
- **IDL** (*intermediate density lipoproteins*) : lipoprotéines de densité intermédiaire, formées dans le circuit sanguin à partir des VLDL ;

- **LDL** (*low density lipoproteins*) lipoprotéines de faible densité, très riches en esters de cholestérol, issues du remaniement des IDL ;
- **HDL** (*high density lipoproteins*) ou lipoprotéines de haute densité, riches en esters de cholestérol qu'elles ramènent des tissus vers le foie.

LP	Densité	Diamètre (nm)	Composition en % de la masse					Apolipoprotéines (apo)
			P	TAG	C	CE	PL	
Chylo	<0,95	75–1000	2	86	1	3	8	A1, B48, C2, C3, E
VLDL	0,96–1,006	30–90	8	52	7	14	18	B100, C1, C2, E
IDL	1,006–1,019	25–40	11	38	8	30	23	B100, E
LDL	1,019–1,063	20–25	21	10	8	38	22	B100
HDL	1,063–1,125	6–14	40	5	3/7	20	29	A1, A2 C, E

VLDL : very low density lipoproteins, IDL : intermediate density lipoproteins, LDL : low density lipoproteins, HDL :high density lipoproteins, LP : lipoprotéine, P : protéine, TAG : triglycérides, C : cholestérol, CE : esters de cholestérol, PL : phospholipides.

3. APOLIPOPROTÉINES

La plupart des apolipoprotéines (apo) sont hydrosolubles et faiblement associées aux lipides. Elles ont un fort pourcentage d'hélices α et de résidus hydrophobes. Elles ont la propriété de s'échanger entre particules de lipoprotéines. Certaines sont des marqueurs comme l'apo B100 des LDL ou l'apo E qui sont reconnues par leurs récepteurs (R) spécifiques sur les membranes cellulaires. Apo C est un activateur de la lipoprotéine lipase (LPL) qui hydrolyse les triacylglycérols et libère les acides gras. Les apos A1 et A2 modulent l'activité de la **lipoprotéine cholestérol acétyl transférase** (LCAT) responsable de la formation des **acyl-cholestérols** qui s'accumulent au cœur des particules de lipoprotéines.

APO	Nombre de résidus	Masse moléculaire (kDa)	Fonction
A 1	243	29	Active LCAT
A 2	77x2	17	Inhibe LCAT
B 48	2 152	241	Spécifique des chylomicrons
B 100	4 536	515	Reconnue par R
C 1	57	6,6	
C 2	79	8,9	Active LPL
C 3	79	8,8	Inhibe LPL
D	169	29	
E	299	34	Reconnue par R

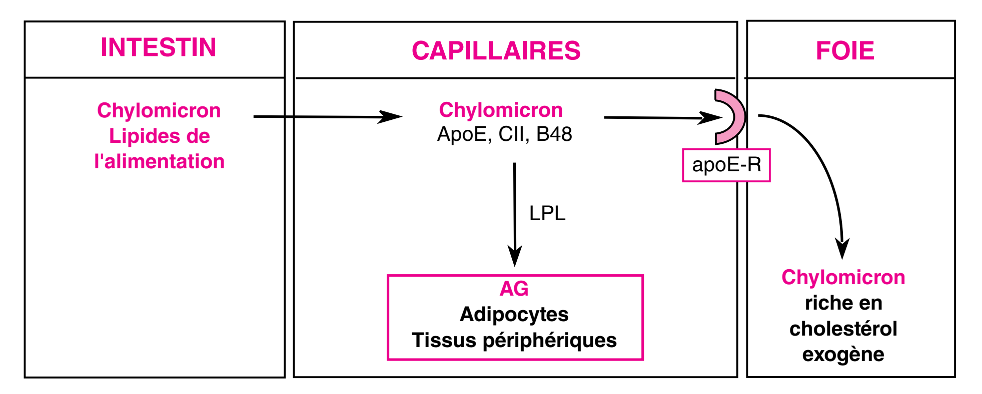
4. LES ÉCHANGES ENTRE LIPOPROTÉINES

Dans le plasma, les lipoprotéines subissent des modifications en échangeant leurs lipides et les apoprotéines ce qui affecte leurs compositions et leurs structures.

- **Chylomicrons**

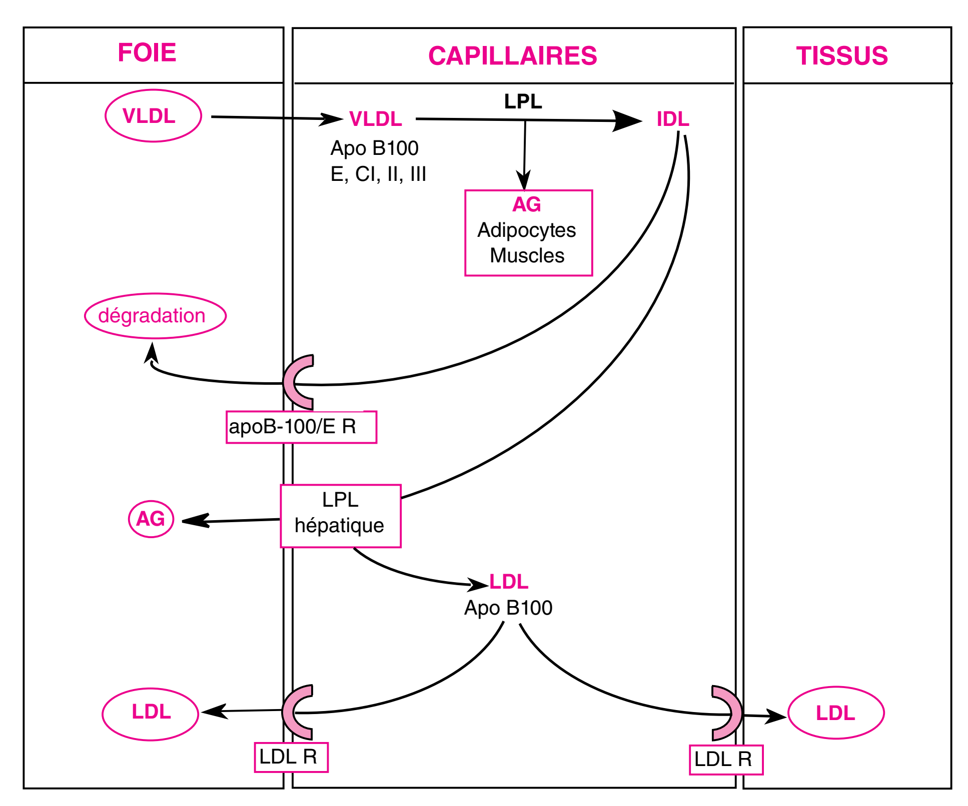
Formés dans les entérocytes, ils sont libérés dans la lymphe puis dans la circulation sanguine où ils reçoivent les apos E et C. La lipoprotéine lipase (LPL) liée à la surface des cellules endothéliales, hydrolyse les triglycérides et libère les acides gras (AG) qui sont

intégrés par les tissus sous-jacents. Les résidus de chylomicrons pénètrent alors par endocytose dans les hépatocytes suite à leur reconnaissance par les récepteurs LDLR (LDL receptor) et LRP (LDL receptor-related protein).



- **VLDL**

Sécrétées par les hépatocytes dans le plasma sanguin, elles subissent également l'action de la lipoprotéine lipase et libèrent des acides gras. Elles deviennent alors des lipoprotéines riches en ester de cholestérol, les IDL. Une grande quantité des IDL retourne au foie où elles seront dégradées. Le retour au foie est assuré par leur liaison aux récepteurs B-100/E (récepteur LDL) hépatiques. Le reste des IDL subit l'activité LPL hépatique, ce qui conduit à leur conversion en LDL.

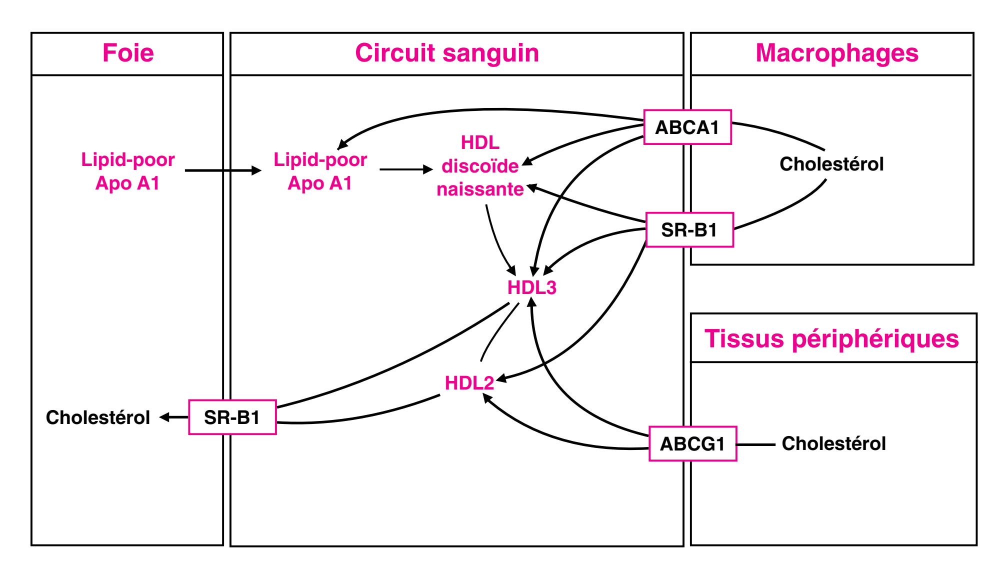


• **LDL**

Elles constituent les transporteurs majeurs du cholestérol vers les tissus où il est intégré aux membranes ou transformé en hormones stéroïdes. Les LDL délivrent le cholestérol aux cellules après avoir été endocytées suite à la reconnaissance de l'apo B100 par un récepteur de surface spécifique.

• **HDL**

Principalement formées dans le foie, les HDL captent le cholestérol à partir des macrophages, via les protéines transporteurs spécifiques ABCA1 et SR-B1, et à partir des membranes des tissus périphériques via le transporteur ABCG1. Les HDL libérées par le foie sont très pauvres en cholestérol ; elles sont nommées « Lipid-poor apo A1 ». Elles se chargent progressivement en cholestérol et évoluent en HDL3 puis HDL2 dont le cholestérol sera repris au niveau du foie via une reconnaissance spécifique par SR-B1 hépatique. Les HDL réalisent donc le **transport inverse du cholestérol**, également appelé RCT (*Reverse Cholesterol Transport*).



5. LE « MAUVAIS CHOLESTÉROL » ET LE « BON CHOLESTÉROL »

L'oxydation des LDL est reconnue comme l'un des facteurs déterminants de l'athérosclérose (rétrécissement de la lumière des vaisseaux sanguins). Les LDL oxydées ne sont pas reconnues par les LDL-R mais par les macrophages qui se transforment alors en **cellules spumeuses** et forment progressivement des plaques d'athérome. En raison de ce rôle néfaste on attribue aux LDL l'étiquette de « **mauvais cholestérol** ».

À l'inverse, le cholestérol des HDL se voit qualifié de « **bon cholestérol** » en raison de la fonction épuratrice des HDL. Un taux élevé de cholestérol n'est pas alarmant dans la mesure où il s'accompagne d'un taux élevé de cholestérol porté par les HDL.

75 Nucléosides et nucléotides

Mots clés

Purines, pyrimidines, adénine, guanine, uracile, cytosine, thymine, nucléosides, nucléotides, nucléosides monophosphate, diphosphate, triphosphate

1. CONSTITUTION DES NUCLÉOSIDES ET DES NUCLÉOTIDES

Dans cette famille de composés, on trouve trois types de molécules : cinq **bases hétérocycliques** : 2 **purines** et 3 **pyrimidines**, deux pentoses : le **ribose** et le **2-désoxyribose**, et du phosphate.

Purine

Adénine
(6-aminopurine)

Guanine
(2-amino 6 oxypurine)

D-Ribose

D-Désoxyribose
(2-désoxy D-ribose)

Pyrimidine

Uracile
(2,4-dioxypyrimidine)

Thymine
(5-méthyluracile)

Cytosine
(2-oxy 4-aminopyrimidine)

2. NUCLÉOSIDES

Un nucléoside est constitué d'une base hétérocyclique dont l'azote 9 (purines) ou l'azote 1 (pyrimidines) est lié par liaison *N*-glycosidique au carbone 1 du ribose (ribonucléosides) ou au carbone 1 du désoxyribose (désoxyribonucléosides). Pour éviter les confusions, les numérotations du ribose et du désoxyribose sont affectées du signe « ′ » (prime). Exemples, l'**adénosine** (ribosyl adénine), la **désoxycytidine** (désoxyribosyl cytosine), la **désoxythymidine** ou **thymidine** (désoxyribosyl thymine) :

Adénosine

Désoxycytidine

Désoxythymidine
(Thymidine)

La thymine se rencontre essentiellement dans les acides désoxyribonucléiques. Aussi, on a coutume de nommer thymidine la désoxyribosyl thymine. On trouve rarement la

thymine dans les acides ribonucléiques ; il est donc utile de préciser la nature exacte du pentose dans le nucléoside correspondant : **ribothymidine**.

Base	Ribonucléoside	Désoxyribonucléoside
Adénine	Adénosine	Désoxyadénosine
Guanine	Guanosine	Désoxyguanosine
Uracile	Uridine	Désoxyuridine (rare)
Thymine	Ribothymidine (rare)	Désoxythymidine ou thymidine
Cytosine	Cytidine	Désoxycytidine

3. NUCLÉOTIDES

Un nucléotide est le produit de la phosphorylation d'une ou de plusieurs fonctions alcool d'un nucléoside (formation de fonctions ester de phosphate, Fiches 8, 32, 33), par exemple, la cytidine-5′-monophosphate ou la désoxyguanosine 3′-5′-bisphosphate :

Cytidine-5′-monophosphate (CMP)

Désoxyguanosine-3′,5′-bisphosphate

Lorsqu'une fonction alcool est estérifiée par deux phosphates, on parlera de diphosphate ; par trois phosphates on parlera de triphosphate :

Cytidine-5′-diphosphate (CDP)

Cytidine-5′-triphosphate (CTP)

Les diphosphates possèdent une fonction anhydride d'acide, les triphosphates en possèdent deux (Fiches 8, 32 et 33).

Récapitulation des nucléosides 5′-monophosphate :

Base	Ribonucléotide	Désoxyribonucléotide
Adénine	Adénosine-5′-monophosphate (AMP)	Désoxyadénosine-5′-monophosphate (dAMP)
Guanine	Guanosine-5′-monophosphate (GMP)	Désoxyguanosine-5′-monophosphate (dGMP)
Uracile	Uridine-5′-monophosphate (UMP)	Désoxyuridine-5′-monophosphate (dUMP)
Thymine	Ribothymidine-5′-monophosphate (rTMP) (rare)	Désoxythymidine-5′-monophosphate (dTMP)
Cytosine	Cytidine-5′-monophosphate (CMP)	Désoxycytidine-5′-monophosphate (dCMP)

76 Biosynthèse des nucléotides

Mots clés

Nucléotides puriques, pyrimidiques, régulation métabolique, antifoliques, chimiothérapie

1. NUCLÉOTIDES PYRIMIDIQUES

Chez les animaux, la synthèse des nucléotides pyrimidiques est obtenue à la suite des mêmes réactions que chez les procaryotes : le carbamylphosphate, provenant d'une réaction entre le bicarbonate (HCO_3^-) et la glutamine, réagit avec l'aspartate pour donner le **carbamylaspartate** (Fiche 61) qui conduit à l'**acide orotique** ; la liaison *N*-glycosidique de l'acide orotique avec le ribose-5-phosphate donne le premier nucléotide, **l'orotidine-5′-phosphate** (OMP) :

La décarboxylation de l'OMP conduit à l'UMP, dont les transformations ultérieures donneront les nucléotides pyrimidiques nécessaires à la synthèse de l'ADN (dCTP, dTTP) et des ARN (CTP, UTP). Chez les bactéries, chaque réaction est catalysée par une enzyme distincte alors que chez les animaux la synthèse est assurée par deux complexes multi-enzymatiques.

2. NUCLÉOTIDES PURIQUES

De nouveau, les réactions sont identiques chez les procaryotes et les eucaryotes, catalysées par des enzymes individuelles chez les premiers et par des complexes multi-enzymatiques chez les seconds (3 complexes chez l'homme). La première réaction, catalysée par la 5-phosphoribosyl-1-diphosphate amido transférase (ATase), consiste dans l'amination du carbone 1 du ribose à partir de la glutamine et du 5-phosphoribosyl-1-diphosphate (PRPP), et donne la 5-phosphoribosylamine (PRA) :

L'hydrolyse ultérieure du PP_i en deux P_i rend cette réaction irréversible. L'ATase, enzyme allostérique, est inhibée par l'AMP, la GMP et par l'**inosine 5′-phosphate** (IMP). L'IMP est le premier nucléotide purique produit par la voie de biosynthèse ; il est constitué d'une molécule d'**hypoxanthine** en liaison *N*-glycosidique avec un ribose-5-phosphate :

Dans cette synthèse, la base hétérocyclique est construite petit à petit en partant de l'azote de la PRA. On notera l'intervention de la glutamine à deux reprises, et la participation, également à deux reprises, d'un dérivé folique, le ***N*^{10}-formyl tétrahydrofolate** (Fiche 50). L'IMP est par la suite modifiée pour donner les nucléotides puriques nécessaires à la synthèse d'ADN (dATP, dGTP) et d'ARN (ATP, GTP).

3. BIOSYNTHÈSE DES NUCLÉOTIDES ET CHIMIOTHÉRAPIE

Le **méthotrexate** est un **antimétabolite** utilisé en chimiothérapie depuis plus de 50 ans. Le méthotrexate est un analogue de l'acide folique dont il se différencie par la présence d'une fonction amine en 4 et par la méthylation de l'azote 10, (comparer avec l'acide folique et ses dérivés, fiche 50) :

La **dihydrofolate réductase**, enzyme qui produit le **tétrahydrofolate**, est inhibée compétitivement par le méthotrexate dont l'affinité pour l'enzyme se révèle 25 000 fois plus élevée que celle présentée par le dihydrofolate, le substrat naturel. Le méthotrexate empêche donc la formation des dérivés du tétrahydrofolate qui interviennent à deux reprises dans la synthèse des nucléotides puriques (ci-dessus), mais aussi dans la synthèse de la dTMP à partir du dUMP (et inhibe donc la synthèse de la dTTP, nécessaire à la duplication de l'ADN). Les cellules tumorales, qui se divisent plus fréquemment que les cellules saines, présentent une sensibilité particulière au méthotrexate et aux molécules de la même famille ; le méthotrexate est également utilisé dans le traitement du **psoriasis** et d'autres **maladies auto-immunes**.

77 Structure de l'ADN

Mots clés
Brins complémentaires, antiparallèles, ADN B, ADN A, ADN Z, pas gauche, pas droit

1. GÉNÉRALITÉS

L'**acide désoxyribonucléique** ou **ADN** est le polymère qui détient l'information génétique nécessaire au maintien, au développement et à la reproduction de tous les organismes vivants, et des virus dont le matériel génétique est constitué d'ADN. L'ADN est constitué de phosphate, de désoxyribose et de quatre bases, deux pyrimidines, la **thymine** (T) et la **cytosine** (C), et deux purines l'**adénine** (A) et la **guanine** (G) (Fiche 75). Le squelette de chaque brin d'ADN consiste dans la répétition monotone de désoxyriboses unis par liaison phosphodiester en 5' et 3' ; l'information génétique est donnée par la succession des bases unies par liaison *N*-glycosidique aux désoxyriboses :

A T A C G

2. STRUCTURE SECONDAIRE DES ADN

Les molécules d'ADN se présentent sous la forme de doubles brins complémentaires et antiparallèles.

- **Complémentarité**

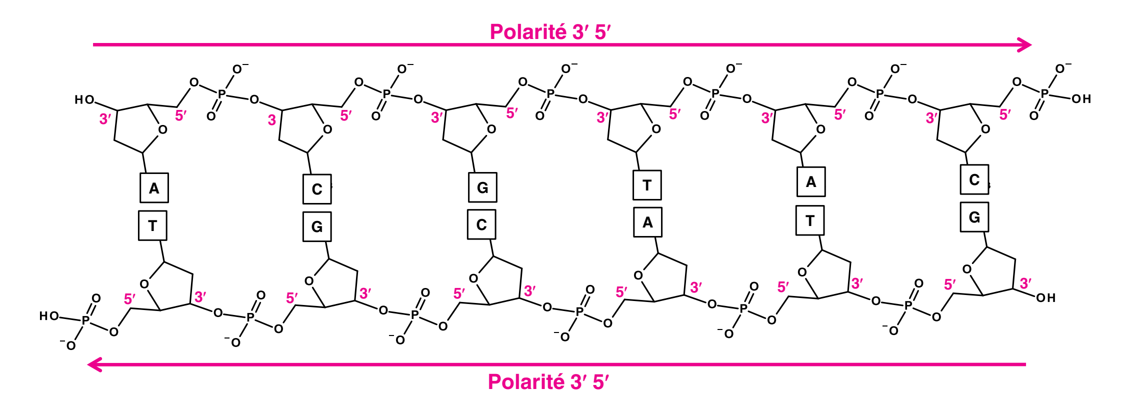
Chacune des bases contracte des liaisons hydrogène avec la base en vis-à-vis sur le brin opposé : l'adénine avec la thymine (2 liaisons H), la guanine avec la cytosine (3 liaisons H). Un ADN peut donc être considéré comme une succession de paires de bases réunies au squelette.

Paire Adénine-Thymine

Paire Guanine-Cytosine

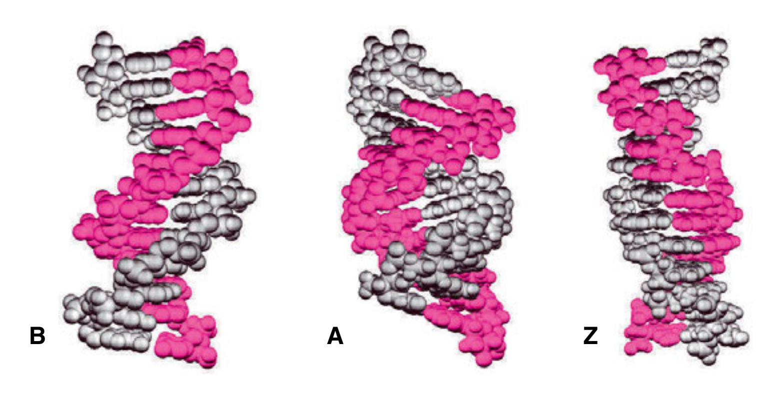
- **Antiparallélisme**

Les désoxyriboses des bases appariées sont en position tête-bêche. Les deux brins ont des polarités opposées ; on dit qu'ils sont anti-parallèles :



3. LES TROIS FORMES CANONIQUES DE L'ADN

Les deux brins adoptent des structures en **double hélice**. La forme **B** est la plus répandue. Sa déshydratation partielle conduit à la forme **A** ; les séquences $(GC)_n$ stabilisent la forme **Z**.



Caractéristique	Forme canonique		
	B	A	Z
Pas de la double hélice	Droit[1]	Droit	Gauche
Unité répétitive	1 paire de base	1 paire de base	2 paires de bases GC -CG
Rotation par unité répétitive	36°	34°	60°
Nombre de paires de bases par tour	10	10,5	12
Inclinaison des paires de bases	~0°	+18°	–9°
Distance entre deux paires de bases	0,34 nm	0,24 nm	0,37 nm
Diamètre de la double hélice	2 nm	2,6 nm	1,8 nm

1. On monte un escalier à pas droit en plaçant la main droite sur la rampe extérieure ; pour un escalier à pas gauche, il s'agit de la main gauche.

78 Acides ribonucléiques

Mots clés

ARN, messager, transfert, ribosome, ribozyme, auto-épissage

1. GÉNÉRALITÉS

Les **acides ribonucléiques** ou ARN sont constitués de phosphate, de ribose et de bases hétérocycliques, essentiellement deux pyrimidines, l'uracile et la cytosine et deux purines, l'adénine et la guanine (Fiche 75). Ils se présentent sous la forme d'enchainements de **ribonucléotides** unis par **liaison phosphodiester** entre les carbones 3′ et 5′ des riboses :

2. DIFFÉRENCES ENTRE ARN ET ADN

• **Instabilité des ARN en milieu alcalin**

La différence chimique essentielle ente ARN et ADN est la présence de la fonction OH en 2′ chez les premiers, ce qui les rend instables en milieu alcalin, contrairement aux seconds. L'hydrolyse de la fonction phosphodiester conduit à des nucléosides 2′,3′-phosphate cycliques puis aux nucléosides 2′ et 3′ phosphate en proportions égales.

• **Modification des nucléotides**

Alors que seuls les quatre nucléosides triphosphates correspondant aux quatre bases A, G, C, U sont nécessaires pour assurer la synthèse des ARN, ces derniers peuvent subir des modifications qui affectent les bases mais aussi le ribose. On compte environ une centaine de réactions de transformations, par exemple : méthylation de l'uracile pour

obtenir la **ribothymidine**, formation de la **pseudouridine**, désamination de l'adénine en **hypoxanthine** ou méthylation du ribose :

Exemples de nucléotides modifiés : ribothymidine (A), pseudouridine (B), inosine (C), 2'-O-méthyladénosine (D).

- **Structures secondaire et tertiaire**

Contrairement aux ADN, les ARN sont constitués d'un seul brin, mais ils peuvent adopter des structures très variées et parfois très complexes, associant des appariements de bases à la formation de boucles ou épingles à cheveux comme dans les **ARN de transfert**.

- **Activité catalytique**

Un certain nombre d'ARN, les ribozymes, catalysent des réactions enzymatiques. Le ribosome, complexe d'ARN et de protéine est l'enzyme responsable de la synthèse des protéines ; plus précisément, le site actif responsable de la formation de la liaison peptidique est une adénine de l'ARN 28S. La **ribonucléase P** est un ARN impliqué dans la maturation des ARN de transfert. Au titre des ARN catalytiques on compte également des **ARN messagers** « autoépissables » qui assurent des étapes de leur propre maturation, mais puisqu'ils ne fonctionnent qu'une seule fois, ils ne se comportent pas rigoureusement comme des enzymes (Fiche 49).

3. CATÉGORIES D'ARN

Outre la variété de composition, les ARN se distinguent également par la variété de taille et de rôles. Le tableau suivant regroupe les types les plus importants des quelques 10 catégories d'ARN connues.

Type d'ARN	Abréviation	Taille (nt : nb de nucléotides)	Rôle
ARN ribosomique	ARNr	De 200 nt (ARN 5S) à 5 000 nt (ARN 28S)	En association avec des protéines, constituants du ribosome, site de la synthèse des protéines impliquant la traduction des séquences d'ARNm et l'assemblage des aminoacides.
ARN messager	ARNm	De quelques dizaines à ~90 000 nt (ARNm de la titine)	Codage de la séquence des aminoacides des protéines par succession de triplets de nucléotides.
ARN de transfert	ARNt	70 à 90 nt	Assurent le transport et le positionnement des aminoacides au cours de la synthèse des protéines.

79 Stratégies du métabolisme énergétique

Mots clés

Homéostasie, métabolisme, catabolisme, anabolisme, type trophique

1. GÉNÉRALITÉS

Les êtres vivants maintiennent leur constitution (**homéostasie**) en dépit des variations de l'environnement, grâce à la régulation précise des différentes voies métaboliques qui, pour certaines, participent au **catabolisme** (réactions **cataboliques** ou de dégradation) et d'autres à l'**anabolisme** (réactions **anaboliques** ou de biosynthèse). Un grand nombre de réactions cataboliques permettent aux organismes de trouver l'énergie nécessaire à la réalisation des réactions anaboliques.

Les organismes se distinguent par leur type de métabolisme, c'est-à-dire par leur manière de trouver l'énergie et leur manière de l'utiliser pour élaborer leurs constituants ; ces distinctions tiennent compte de trois critères :

- **la source d'énergie**, qui peut être chimique (organismes chimiotrophes) ou lumineuse (organismes phototrophes) ;
- **la nature du réducteur** (donneur d'électrons), inorganique (organismes lithotrophes) ou organique (organismes organotrophes) ;
- **la source de carbone**, inorganique (organismes autotrophes) ou organique (organismes hétérotrophes).

Ces trois alternatives permettent de concevoir huit **types trophiques** fondamentaux ($2^3 = 8$) ; deux d'entre eux rassemblent la grande majorité des organismes connus :

- **les organismes photo-litho-autotrophes**, parmi lesquels on trouve les végétaux chlorophylliens et la plupart des **cyanobactéries** ; la source de carbone est CO_2, le dioxyde de carbone ;
- **les organismes chimio-organo-hétérotrophes**, qui regroupent les animaux, les champignons et un grand nombre d'espèces bactériennes.

2. LE MÉTABOLISME ÉNERGÉTIQUE

C'est la partie du catabolisme qui est couplée à la production de molécules riches en énergie (essentiellement l'ATP) et à la formation des coenzymes réduits (principalement NADH, NADPH, $FMNH_2$, $FADH_2$). On distingue deux processus fondamentaux :

- **les respirations**, qui consistent au niveau cellulaire à « injecter » dans des « chaînes respiratoires » membranaires des électrons qui réduisent un accepteur final. Le cheminement des électrons est couplé à la production d'ATP (Fiche 83). Si l'accepteur final des électrons est l'oxygène, on parle de **respiration aérobie** ; s'il s'agit d'un autre accepteur, on parle de **respiration anaérobie**.
- **les fermentations anaérobies**, voies métaboliques qui couplent le remaniement des atomes d'une molécule de substrat avec la formation d'ATP. Par exemple la fermentation lactique, au cours de laquelle une molécule de glucose ($C_6H_{12}O_6$) est remaniée en deux molécules d'acide lactique ($2 \times C_3H_6O_3$), avec la production de 2 ATP.

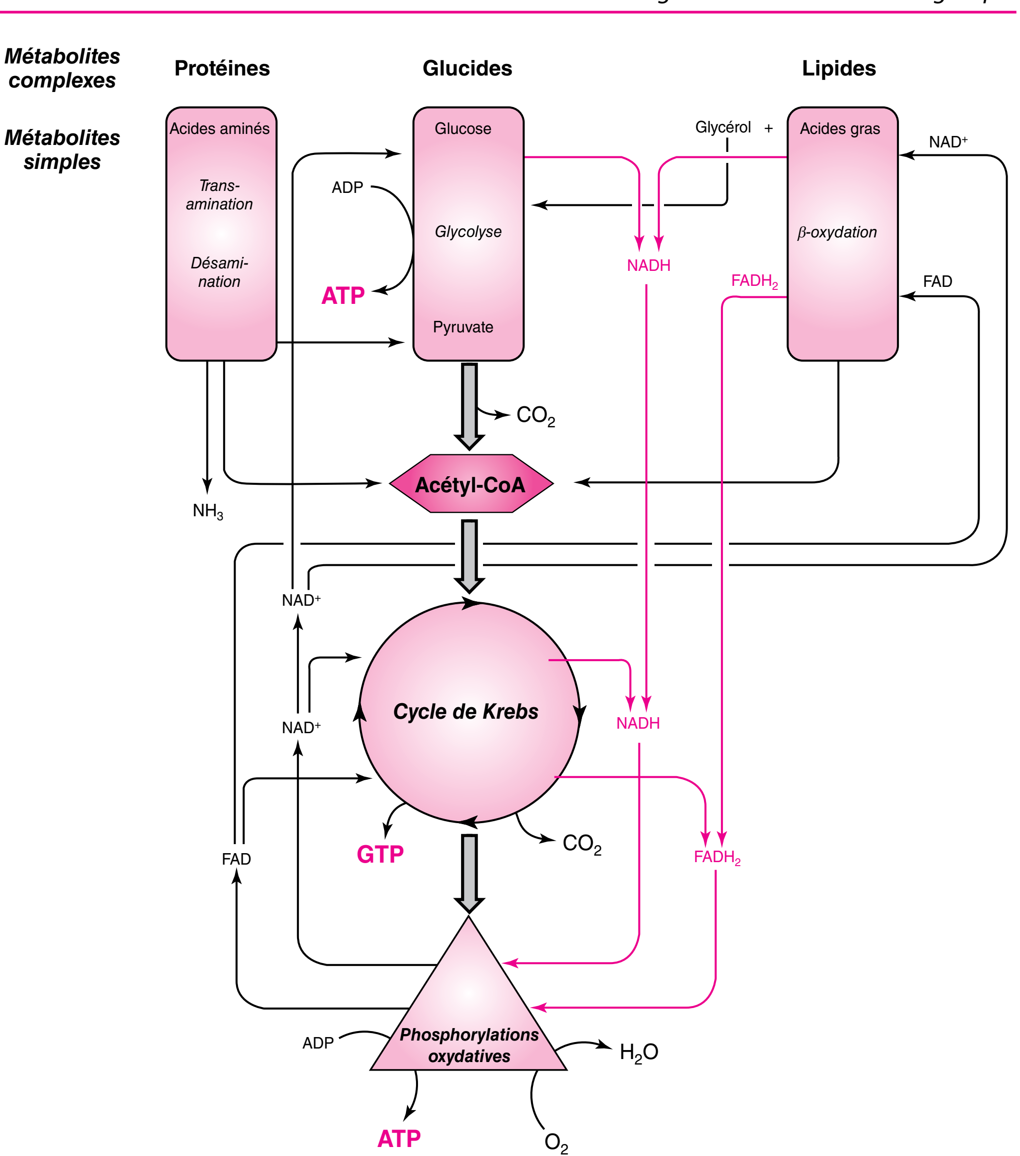


Schéma général des différentes voies du catabolisme.

3. L'ANABOLISME

L'anabolisme consiste dans la synthèse de métabolites simples et dans leur assemblage éventuel en macromolécules. Les voies de l'anabolisme sont **endergoniques** ; elles nécessitent de l'énergie, essentiellement sous forme d'ATP, et des éléments réducteurs, principalement sous la forme de NADPH. Le pyruvate, l'acétyl-CoA et quelques intermédiaires de la glycolyse et du cycle de Krebs sont utilisés comme précurseurs des métabolites simples.

80 La glycolyse

Mots clés

Glucose, Embden Meyerhof, voie amphibolique

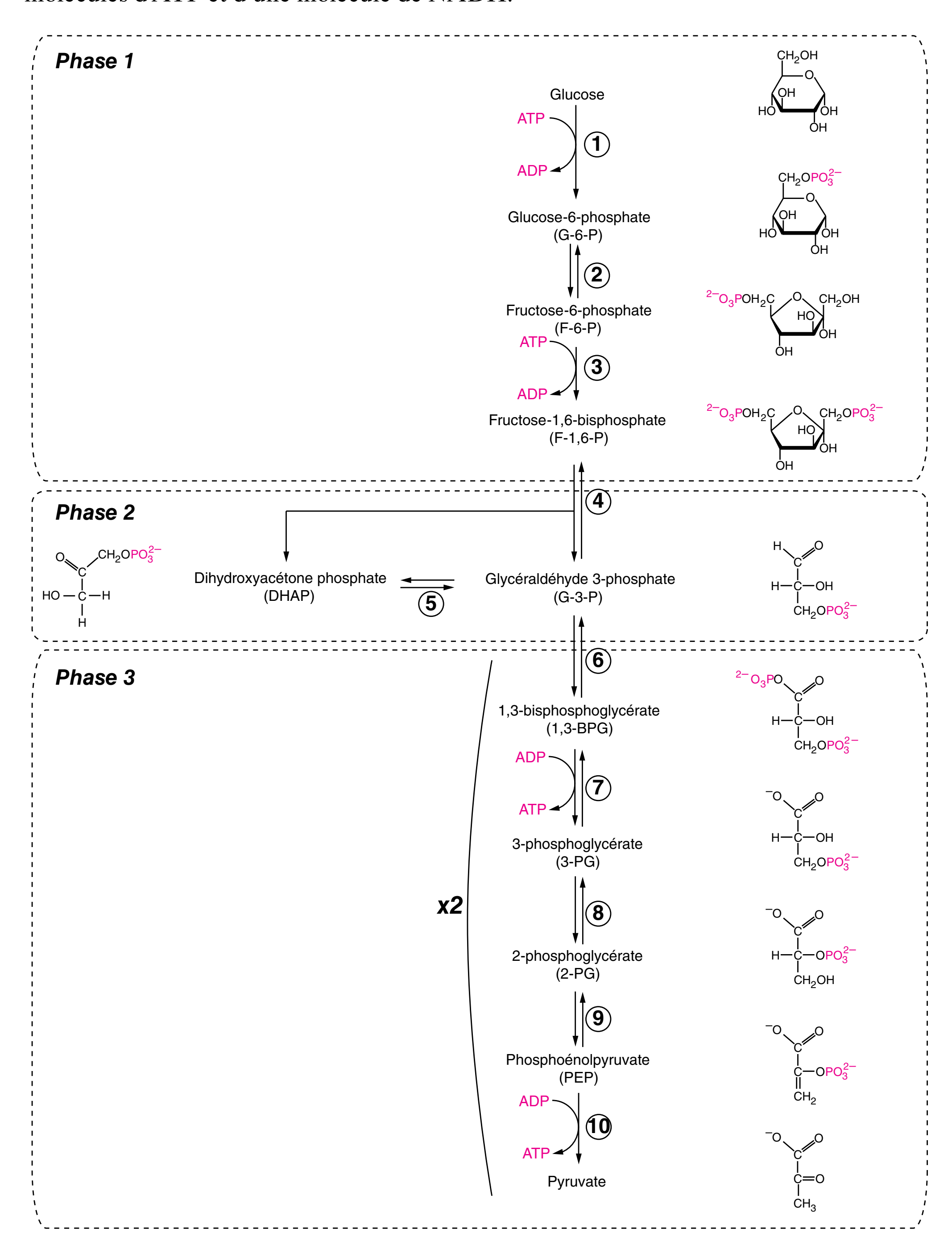
1. GÉNÉRALITÉS

La glycolyse ou **voie de Embden-Meyerhof** est une voie d'oxydation anaérobie du glucose en pyruvate ; cette voie est commune aux procaryotes et aux eucaryotes (chez les cellules eucaryotes, la glycolyse de déroule dans le cytoplasme). C'est une voie amphibolique : elle intervient à la fois dans l'anabolisme et le catabolisme.

2. LES ÉTAPES DE LA GLYCOLYSE

Phase	Réaction	Enzyme	Activité – réaction catalysée
1 Activation par phosphorylation	1	Hexokinase (HK)	Phosphorylation de la fonction alcool primaire du glucose, formation du glucose-6-phosphate **Consommation de 1 ATP**
	2	Phosphoglucose isomérase (PGI)	Isomérisation réversible du glucose-6-phosphate en fructose-6-phosphate
	3	Phosphofructokinase-1 (PFK-1)	Phosphorylation de la fonction alcool primaire en 1 du fructose-6-phosphate, formation du fructose-1,6-bisphosphate **Consommation de 1 ATP**
2 Formation des trioses phosphate	4	Aldolase	Coupure de la liaison C3 - C4 du fructose-1,6-bisphosphate, formation du glycéraldéhyde-3-phosphate et de la dihydroxyacétone phosphate.
	5	Triose phosphate isomérase (TIM)	Isomérisation de la dihydroxyacétone phosphate en glycéraldéhyde-3-phosphate
3 Conversion des trioses phosphate en composés riches en énergie et formation d'ATP	6	Glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase (G3PDH)	Oxydation et phosphorylation de la fonction aldéhyde du glycéraldéhyde-3-phosphate **Production de 1 NADH + H^+**
	7	Phosphoglycérate kinase (PGK)	Transfert du groupe phosphoryl en 1 du 1,3 bisphosphoglycérate sur l'ADP, formation du 3 phosphoglycérate **Production de 1 ATP**
	8	Phosphoglycérate mutase (PGM)	Isomérisation réversible du 3-phosphoglycérate en 2-phosphoglycérate
	9	Enolase	Déshydratation du 2-phosphoglycérate en phosphoénolpyruvate
	10	Pyruvate kinase (PK)	Transfert du phosphate du phosphoénolpyruvate sur l'ADP, formation du pyruvate **Production de 1 ATP**

La glycolyse peut être divisée en trois phases qui ont pour effet de transformer une molécule de glucose en deux molécules de pyruvate avec la production nette de deux molécules d'ATP et d'une molécule de NADH.



3. REGULATION DE LA GLYCOLYSE

Dans la voie de la glycolyse, les trois réactions irréversibles (réactions 1, 3 et 10) sont les étapes soumises à la régulation métabolique. Le mode de régulation de la glycolyse dépend du niveau énergétique de la cellule.

- Pour un niveau énergétique faible (concentration intracellulaire en AMP élevée). La phosphofructokinase-1 (réaction 3) est activée allostériquement par l'AMP. La concentration de fructose-1,6-bisphosphate augmente, ce qui active la pyruvate kinase et donc augmente le flux de la voie métabolique.
- Pour un niveau énergétique élevé (concentration intracellulaire en ATP élevée). La phosphofructokinase-1 (réaction 3) et la pyruvate kinase (réaction 10) sont inhibées allostériquement par l'ATP. La concentration de de glucose-6-phosphate augmente, ce qui inhibe l'hexokinase et donc diminue le flux de la voie métabolique.

81 Rôle central de l'acétyl-CoA

Mots clés

Pyruvate, glucose-6-phosphate, coenzyme A, acides gras, cycle de Krebs, corps cétoniques

1. GÉNÉRALITÉS

Le flux des molécules du métabolisme est lié à trois intermédiaires métaboliques clés qui sont le **glucose-6-phosphate**, le **pyruvate** et l'**acétyl-CoA**.

Le glucose-6-phosphate correspond au produit de l'hexokinase qui phosphoryle le glucose dès son entrée dans la cellule. Il peut également être produit suite à la dégradation du glycogène et des acides aminés glucoformateurs. Ce glucose-6-phosphate pourra soit être stocké sous forme de glycogène, soit dégradé en pyruvate, soit être converti en **ribose-5-phosphate**.

Le pyruvate provient essentiellement du glucose-6-phosphate, de l'alanine (acide aminé glucoformateur) et du lactate. Il participe à trois voies métaboliques majeures qui sont :

- La production de lactate qui permet de réoxyder le $NADH+H^+$ produit lors de la glycolyse
- La production d'alanine par transamination.
- La production d'oxaloacétate par carboxylation, étape initiale de la gluconéogenèse.

2. RÔLE CENTRAL DE L'ACÉTYL-COA

Acétyl-CoA est le nom abrégé de **acétyl-coenzyme A**. Cette molécule correspond à la forme « activée » de l'acide acétique suite à la liaison thioester formée avec le coenzyme A.

Liaison thioester

Coenzyme A

Liaison thioester

S-CoA

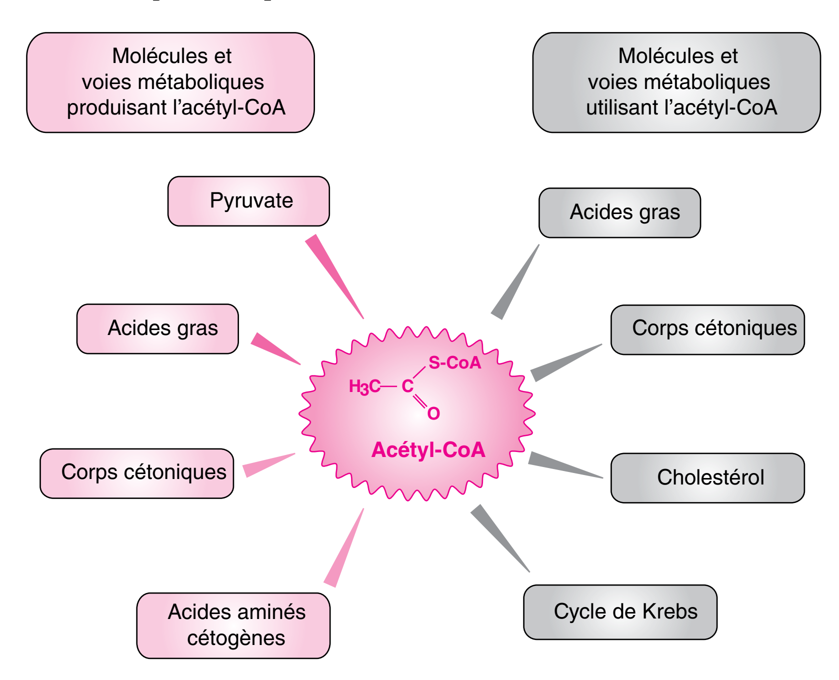
Formules développée, et abrégée, de l'acétyl-Coenzyme A (acétyl-CoA).

L'acétyl-CoA est une molécule à haut potentiel d'hydrolyse (Fiche 32), produite par deux voies métaboliques majeures :

- La décarboxylation oxydative du pyruvate catalysée par le complexe **pyruvate déshydrogénase** constitué de trois enzymes : la pyruvate déshydrogénase, la **dihydrolipoamide S-acétyltransférase**, la **dihydrolipoyl déshydrogénase** qui agissent de concert avec 5 cofacteurs : la thiamine diphosphate (TPP), la lipoamide/dihydrolipoamide, le coenzyme A, le FAD et le NAD^+.
- La **bêta-oxydation des acides gras**.

Dans une moindre mesure, l'acétyl-CoA peut provenir des acides aminés cétogènes et en période de jeûne des corps cétoniques.
Les destinées de l'acétyl-CoA sont diverses, mais limitées. Il permettra :

- d'alimenter le cycle de Krebs au niveau duquel les deux carbones du groupe acétyl sont totalement oxydés en CO_2 et H_2O ;
- de synthétiser des acides gras dans le cytoplasme via le malonyl-CoA ;
- de former le **3-hydroxy-3-méthylglutaryl-CoA (HMG-CoA)**, unité à six carbones, précurseur des corps cétoniques et des stéroïdes dont le cholestérol.



82 Cycle de Krebs

Mots clés

Acétate, cycle amphibolique, réactions anaplérotiques

1. GÉNÉRALITÉS

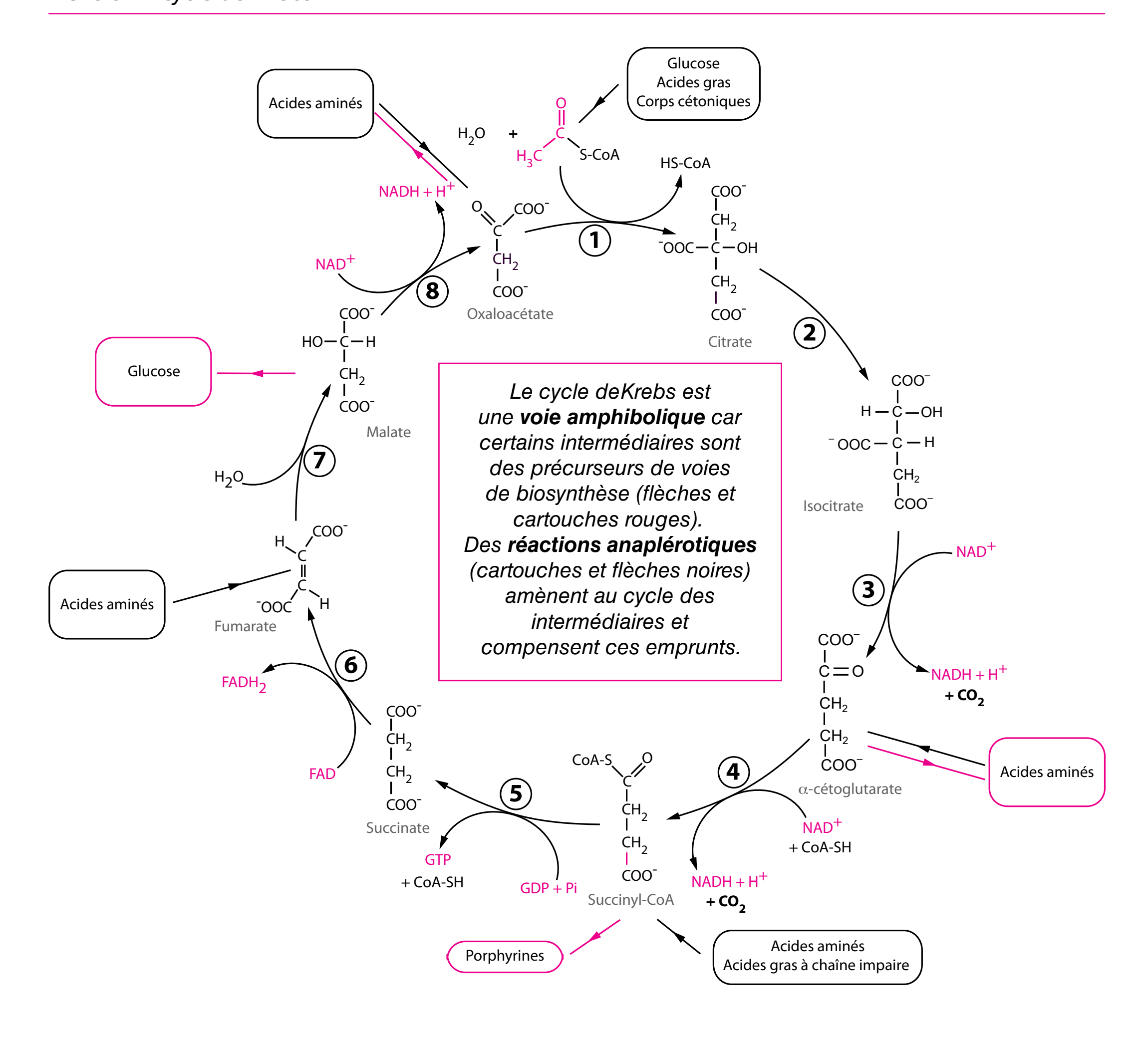
Également nommé **cycle des acides tricarboxyliques**, ou **cycle de l'acide citrique**, ce cycle constitue une **voie amphibolique** car il appartient à la fois au métabolisme catabolique (oxydation de nombreux oses, des acides gras, etc.) et au métabolisme anabolique (fournit citrate, succinyl-CoA, malate, etc.).

Ce cycle est présent chez les procaryotes et chez les eucaryotes où il est localisé dans la matrice mitochondriale. C'est un processus de décarboxylation oxydative de l'acétate, générateur de coenzymes réduits (NADH, $FADH_2$) et de molécules riches en énergie (GTP). Ce cycle est composé de huit réactions successives formant une boucle métabolique. L'acétate est introduit dans le cycle sous forme d'acétyl-CoA qui a pour origine la dégradation oxydative de divers substrats (Fiche 81).

2. LES RÉACTIONS DU CYCLE DE KREBS

Les huit réactions successives du cycle sont décrites dans le tableau ci-dessous et sur la figure associée.

Réaction	Enzyme	Activité – réaction catalysée	Produit de la réaction
1	Citrate synthase	Condensation de l'acétyl-CoA avec l'oxaloacétate.	Citrate
2	Aconitase	Isomérisation réversible du citrate (alcool tertiaire) en isocitrate (alcool secondaire).	Isocitrate
3	Isocitrate déshydrogénase	Décarboxylation oxydative de l'isocitrate. Production de NADH + H^+ et de CO_2.	α–Cétoglutarate
4	α-Cétoglutarate déshydrogénase	Décarboxylation oxydative de l'α-cétoglutarate. Réaction couplée à la production de NADH + H^+ et CO_2.	Succinyl-CoA
5	Succinyl-CoA synthétase	Clivage du succinyl-CoA et production d'une molécule de GTP.	Succinate
6	Succinate déshydrogénase	Oxydation du succinate. Production de $FADH_2$.	Fumarate
7	Fumarase	Hydratation de la double liaison du fumarate.	Malate
8	Malate déshydrogénase	Oxydation de l'alcool secondaire du malate. Production de NADH + H^+.	Oxaloacétate



D'un point de vue énergétique, pour une molécule d'acétate introduite dans le cycle sous forme d'acétyl-CoA, il y aura production de :

- 2 molécules de CO_2
- 3 molécules de NADH et une molécule de $FADH_2$ qui seront réoxydées par la chaîne respiratoire et permettont la synthèse respectivement de 7,5 et 1,5 ATP.
- 1 molécule de GTP qui est en équilibre avec un ATP.

Donc, un tour de cycle permet la formation de 10 molécules d'ATP.

3. RÉGULATION DU CYCLE DE KREBS

Les enzymes catalysant les étapes 1, 3 et 4 (réactions irréversibles) sont soumises à régulation allostérique. La citrate synthase est activée par l'ADP, et inhibée par le NADH, le citrate, l'ATP et le succinyl-CoA. L'isocitrate déshydrogénase est activée par l'ADP et le NAD+ et inhibée par l'ATP et le NADH. L'alpha-cétoglutarate déshydrogénase est inhibée par le succinyl-CoA, l'ATP et le NADH.

83 Oxydations phosphorylantes

Mots clés
Coenzymes réduits, complexes I, II, III, IV, ATP-synthase

1. GÉNÉRALITÉS

Le $FADH_2$ et le NADH sont des coenzymes réduits produits dans la matrice mitochondriale lors des différentes étapes d'oxydation (cycle de Krebs, oxydation des acides gras, etc.) et également dans le cytoplasme lors de la glycolyse. Les molécules de NADH générées lors de la glycolyse ne pouvant pénétrer dans la matrice mitochondriale, ce sont les électrons qui y seront transférés par deux systèmes navette qui sont la **navette du glycérol phosphate** et la **navette malate-aspartate**. Les coenzymes réduits sont réoxydés au niveau de la chaîne respiratoire localisée dans la membrane interne mitochondriale. Cette réoxydation s'accompagne de la formation d'un gradient de protons qui seront utilisés pour la formation d'ATP, d'où le nom d'**oxydation phosphorylante**.

2. LA CHAÎNE RESPIRATOIRE

La chaîne respiratoire est constituée de quatre complexes fixes insérés dans la membrane interne mitochondriale.

- Le **complexe I** ou **NADH-ubiquinone oxydoréductase**. Ce complexe transfère les électrons du NADH au coenzyme FMN. Les électrons seront ensuite transférés à l'**ubiquinone (CoQ)** par l'intermédiaire des protéines fer-soufre (Fe-S). Ce complexe est spécifiquement inhibé par la roténone.
- Le **complexe II** ou **succinate-ubiquinone réductase**. Ce complexe possède une activité succinate deshydrogénase qui catalyse le transfert des électrons depuis le succinate au CoQ en utilisant le FAD comme coenzyme. Ce complexe est inhibé par le malonate.
- Le **complexe III** ou **ubiquinol-cytochrome c réductase**. Ce complexe transfère les électrons depuis l'**ubiquinol** ou **coenzyme Q réduit ($CoQH_2$)** au cytochrome *c* par l'intermédiaire des cytochromes *b* et c_1. Ce complexe est inhibé par l'antimycine A.
- Le **complexe IV** ou **cytochrome-*c* oxydase**. Ce complexe transfère les électrons depuis le cytochrome *c* à l'oxygène par l'intermédiaire des cytochromes *a* et a_3. Ce complexe est inhibé par le cyanure, l'azide ou encore le monoxyde de carbone.

Les complexes I, III et IV sont des pompes à protons, c'est-à-dire que le transfert des électrons s'accompagne du transfert de protons depuis la matrice vers l'espace intermembranaire.

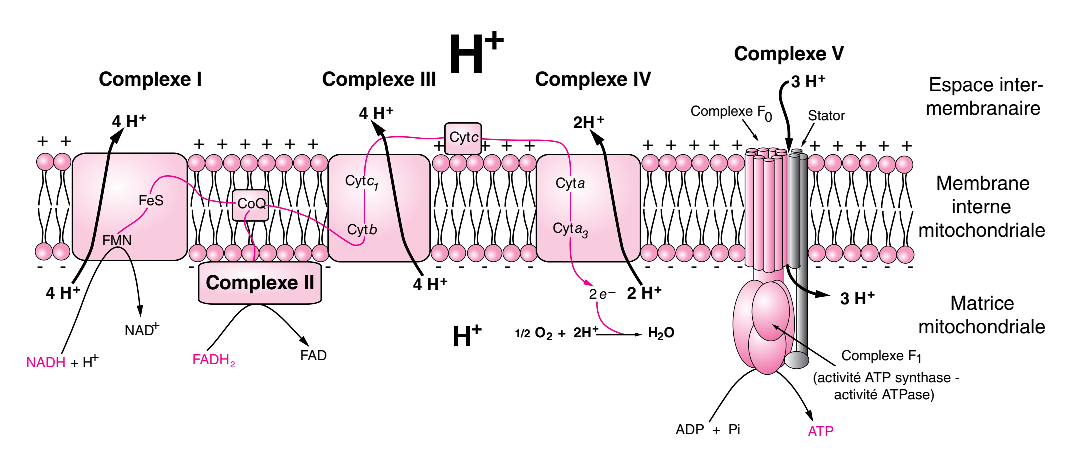
Deux éléments mobiles sont également présents. Il s'agit de l'**ubiquinone** ou **coenzyme Q**, lipide membranaire pouvant exister sous forme oxydée ou réduite et du **cytochrome c**, une protéine hydrosoluble localisée sur la face externe de la membrane interne mitochondriale.

3. FONCTIONNEMENT DE LA CHAÎNE RESPIRATOIRE

Les coenzymes réduits libèrent leurs électrons au niveau des complexes I ou II. À ce niveau, les atomes d'hydrogène sont dissociés en protons et électrons. Les électrons libérés sont transférés au complexe III par le coenzyme Q, puis au complexe IV par le cytochrome c. Les électrons sont transférés des systèmes ayant les potentiels d'oxydo-réduction les plus bas (pour le NADH) aux plus élevés (pour le dioxygène) (Fiche 26) et s'accompagne de la formation d'un gradient de protons de part et d'autre de la membrane.

Le gradient électrochimique de protons $\Delta\mu H^+$ génère entre les deux faces de la membrane, une **force proton-motrice** (combinaison de la différence de potentiel électrique et du gradient de proton) qui sera utilisée pour la synthèse d'ATP à partir d'ADP et de Pi. Cette synthèse est catalysée par le **complexe V** de la chaîne respiratoire ou **complexe ATP synthase-ATPase**. Ce mécanisme a été proposé par Peter Mitchell sous le nom de **théorie chimio-osmotique**.

L'ATP synthase est un complexe multiprotéique comportant une partie membranaire F_0 qui assure le retour des protons dans la matrice mitochondriale et une partie matricielle F_1 qui assure la phosphorylation de l'ADP. F_0 se comporte comme un rotor activé par le retour des protons et fournit l'énergie nécessaire à F_1 pour créer la liaison phospho-anhydride entre l'ADP et le Pi.



Organisation de la chaîne respiratoire dans la membrane interne mitochondriale illustrant le trajet des électrons (trait en couleur) et le transport des protons.

84 Bêta-oxydation des acides gras

Mots clés

Acides gras, bêta-oxydation, ATP, mitochondrie, carnitine

1. GÉNÉRALITÉS

Les acides gras sont principalement oxydés par la voie de la **bêta-oxydation** mitochondriale, mais celle-ci n'est pas la seule, il existe une voie peroxysomale, de même qu'il existe une alpha- et une oméga-oxydation. Dans cette fiche, nous nous intéresserons uniquement à la bêta-oxydation mitochondriale d'un acide gras saturé à nombre pair d'atomes de carbone.

Le préfixe bêta vient du fait que les enzymes catalysant les réactions de l'oxydation oxydent le carbone β des acides gras. L'oxydation s'effectue en trois grandes phases qui sont l'activation, le transport et l'oxydation proprement dite.

2. ACTIVATION DE L'ACIDE GRAS

Il s'agit d'une réaction d'acylation ATP-dépendante qui donne un acyl-CoA. Cette réaction est catalysée par au moins trois **acyl-CoA synthétases** (**thiokinases**) plus ou moins spécifiques pour un acide gras de longueur donnée. Ces enzymes sont localisées dans la membrane du réticulum endoplasmique (RE) (Fiche 1) ou dans la membrane externe mitochondriale. Cette réaction est irréversible car le pyrophosphate (PPi) libéré est immédiatement hydrolysé par une **pyrophosphatase**.

3. TRANSPORT DE L'ACIDE GRAS DANS LA MITOCHONDRIE

Comme l'oxydation de l'acide gras est matricielle, celui-ci traverse les membranes mitochondriales via un transporteur d'acyl-CoA qui fait intervenir la **carnitine**. On assiste à quatre réactions successives :

1. Transfert de l'acyl d'un acyl-CoA cytosolique sur la carnitine. Cette réaction, catalysée par la **carnitine palmitoyltransférases I** localisée sur la face externe de la membrane interne mitochondriale, donne un acyl-carnitine.
2. Transport de l'acyl-carnitine dans la matrice mitochondriale par le **transporteur de carnitine**.
3. Transfert de l'acyl de l'acyl-carnitine sur une molécule de Coenzyme A mitochondrial, réaction catalysée par la **carnitine palmitoyltransférase II** localisée sur la face interne de la membrane interne mitochondriale.
4. La carnitine libérée retourne dans le cytosol via le transporteur de carnitine.

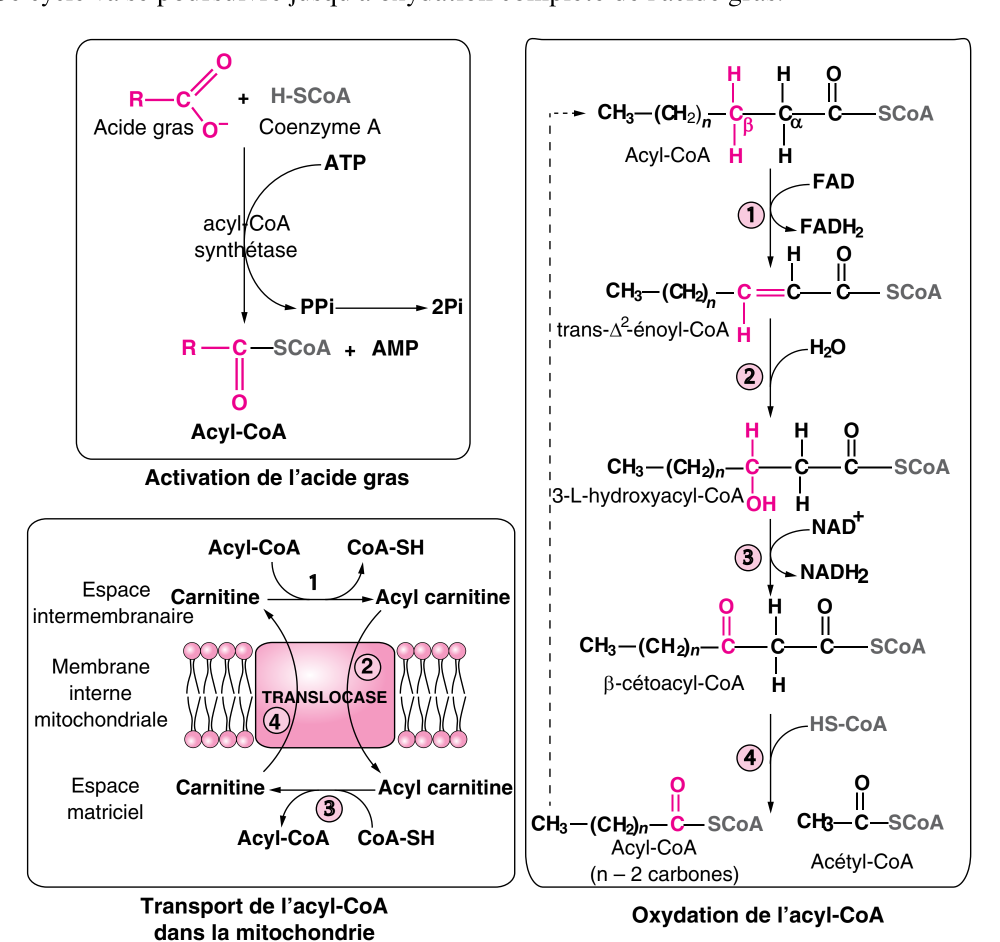
3. OXYDATION DE L'ACIDE GRAS

Cette phase comprend 4 réactions successives :

1. Oxydation catalysée par une **acyl-CoA déshydrogénase** (il en existe quatre plus ou moins spécifiques en fonction du nombre d'atomes de carbone) agissant sur les carbones α et β. Le $FADH_2$ formé est réoxydé par la chaîne respiratoire.

2. Hydratation de la double liaison par l'énoyl-CoA hydratase qui donne un **3-L-hydroxyacyl-CoA**.
3. Oxydation NAD^+-dépendante du β-hydroxyacyl-CoA par la **3-L-hydroxyacyl-CoA déshydrogénase**. Le produit est le β-cétoacyl-CoA.
4. Thiolyse de la liaison Cα-Cβ, catalysée par la **β-cétoacyl-CoA thiolase**. On obtient un acétyl-CoA et un nouvel acyl-CoA avec deux atomes de carbone de moins que l'acyl-CoA initial.

Ce cycle va se poursuivre jusqu'à oxydation complète de l'acide gras.



4. BILAN ÉNERGÉTIQUE

Exemple de l'oxydation du palmitoyl-CoA (acide gras à 16 atomes de carbone). Sept cycles de β-oxydation, forment 7 $FADH_2$, 7 NADH et 8 acétyl-CoA qui, oxydés dans le cycle de Krebs, donneront 8 GTP, 24 NADH et 8 $FADH_2$. Les 31 molécules de NADH formeront 77.5 ATP et les 15 molécules de FADH, formeront 22.5 ATP dans la chaîne respiratoire. Il faut soustraire deux équivalents d'ATP nécessaires à la formation de l'acyl-CoA. L'oxydation d'une molécule de palmitate permet la formation nette de **106 molécules d'ATP**.

Glossaire

Pour se repérer plus facilement, les mots du glossaire sont en couleur dans le cours.

Action autocrine : l'expression qualifie l'action des molécules qui agissent sur la propre cellule qui les synthétise

Agents chaotropiques : du grec chaos, désordre ; agents qui déstabilisent la conformation des macromolécules biologiques (urée, chlorure de guanidinium)

Anhydrase carbonique : enzyme qui catalyse l'hydratation du dioxyde de carbone (CO_2) en hydrogénocarbonate (HCO_3^-), et la réaction inverse. Cette activité enzymatique est présente chez tous les organismes vivants et dans toutes les cellules, plus particulièrement dans les globules rouges.

Anti-apoptotique : se dit des agents, principalement des protéines, qui inhibent la mort cellulaire programmée (apoptose).

Archées : les archées ou, *archaea*, archéobactéries (du grec *archaios*, primitif) constituent l'un des trois domaines du monde vivant, à côté des eucaryotes et des bactéries. À l'instar des bactéries, les archées sont des organismes unicellulaires ne possédant pas de noyau, donc des procaryotes, mais elles se distinguent des bactéries par un grand nombre de caractéristiques, notamment par l'organisation et le mode de réplication de l'ADN.

Caroténoïde : pigments végétaux de couleur jaune à orange dérivés de l'isoprène et qui présentent un nombre élevé de doubles liaisons conjuguées.

Caspases : famille de protéases impliquées dans le processus de mort cellulaire programmée (apoptose) et dont l'activité dépend d'un résidu cystéine et d'un résidu aspartate du site actif, d'où leur nom : caspase.

Cellule spumeuse : macrophage chargé d'esters de cholestérol formant la matière première des plaques d'athérosclérose.

Chlorophylle : du grec *chlorós*, vert et *phýllon*, feuille ; famille de pigments responsables de la captation de l'énergie lumineuse, première étape de la photosynthèse.

Composé hypervalent : molécule comportant un atome hypervalent, c'est-à-dire un atome portant plus de huit électrons sur sa couche de valence, en contradiction avec la règle de l'octet.

Composé isoprénique : molécule issue de la condensation de plusieurs unités d'isoprène (méthyl-2-butadiène : $CH_2{=}CH(-CH_3)-CH{=}CH_2$).

Conductimétrie : technique de mesure de la conductivité électrique d'une solution.

Conformères : stéréoisomères qui se déduisent les uns des autres par rotation autour des axes des liaisons sigma, sans rupture ou formation de liaisons covalentes (on dit également isomères de conformation, par opposition aux isomères de configuration).

Constante diélectrique : ou permittivité relative, mesurée par le rapport entre la permittivité du milieu ε et la permittivité absolue du vide ε_0.

Coordination : liaison covalente dans laquelle les deux électrons partagés proviennent du même atome ; appelée également « covalence dative » pour la même raison.

Cyanobactéries : embranchement bactérien regroupant plus de 7 000 espèces capables d'effectuer la photosynthèse oxygénique, à savoir utiliser l'énergie lumineuse pour réduire et fixer le dioxyde de carbone au moyen d'électrons tirés de la molécule d'eau, l'oxygène constituant le sous-produit.

Debye (force de) : force intermoléculaire faisant partie des forces de van der Waals. La force de Debye décrit l'interaction entre un dipôle permanent et un dipôle induit. L'énergie de cette liaison est proportionnelle à $1/r^6$ (r : distance entre les deux dipôles).

Espèces réactives de l'oxygène : dérivés du dioxygène constituants du stress oxydatif et donnant naissance à des dommages cellulaires : radical hydroxyl $HO^\bullet$, peroxyde d'hydrogène H_2O_2, radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$, oxygène singulet $^1O_2$.

Force ionique : $I = \frac{1}{2}\sum c_i \, z_i^2$ où ci est la concentration molaire et z la charge électrique de chaque ion en solution. La force ionique est le principal facteur qui modifie l'activité des ions en solution aqueuse.

Glycosaminoglycannes : ou « mucopolysaccharides acides », hétéropolyholosides dont certaines unités portent des charges négatives : carboxyles (acide hyaluronique) ou plus généralement sulfates (héparine, chondroïtine sulfate)

Héparine : glycosaminoglycanne doté de propriétés anticoagulantes, en raison de son action activatrice de l'antithrombine, inhibiteur de protéases impliquées dans la coagulation du sang.

Homéostasie : tendance des organismes vivants à équilibrer leurs diverses constantes physiologiques.

Keesom (force de) : force de van der Waals, décrivant l'interaction entre deux dipôles permanents. L'énergie de cette liaison est proportionnelle à $1/r^6$ (r : distance entre les deux dipôles).

Leghémoglobine : hémoprotéine végétale (hème B) synthétisée en abondance dans les nodules des racines de légumineuses (trèfle, luzerne, soja, etc.). La fixation du dioxygène par la leghémoglobine contribue à baisser la pression partielle de dioxygène dans les nodules et permettre le développement de microorganismes symbiotiques anaérobies responsables de la réduction du diazote atmosphérique en ammoniac.

London (force de) : force de Van der Waals décrivant l'interaction entre deux dipôles induits. L'énergie de cette liaison est proportionnelle à $1/r^6$ (r : distance entre les deux dipôles). La composante de London est la plus importante des trois forces de van der Waals (Debye, Keesom, London).

Mésomère : la mésomérie décrit la délocalisation d'électrons dans un système de liaisons conjuguées. Le benzène est la première molécule organique dont les propriétés chimiques ont été justifiées par la mésomérie.

Moment dipolaire : un dipôle électrique est constitué de deux charges égales et opposés q et – q séparées par une distance l. Le moment dipolaire est un vecteur μ de norme $\mu = q \cdot l$, dirigé de la charge négative vers la charge positive.

Monoamine oxydase : groupe d'enzymes (MAO) présentes dans la membrane externe des mitochondries de toutes les cellules animales et dans le cerveau au niveau des synapses.

Nombre d'Avogadro : nombre de particules par mole de substance :

$$N_A = 6{,}0221367\ 10^{23}\ mol^{-1}.$$

Nombre de turn-over : en cinétique enzymatique, le nombre de turn-over, ou plus simplement turnover, désigne le nombre de moles de produit formées en une seconde par une mole d'enzyme saturée par le substrat.

Permittivité absolue du vide : mesure de la réponse du vide à l'application d'un champ électrique.

Polymérisation en chaîne : ou PCR, technique d'amplification de séquence d'ADN double brin qui met à profit la thermostabilité de l'ADN polymérase de la bactérie *Thermus aquaticus*.

Porine : protéines formant des canaux transmembranaires trouvées dans les membranes bactériennes ou dans la membrane externe des mitochondries. Les porines permettent le passage, par simple diffusion, d'ions et de petites molécules de part et d'autre des membranes.

Pro-caspase : précurseur de caspase sont l'activation nécessite l'hydrolyse d'une liaison peptidique spécifique.

Propriétés colligatives : propriété qui dépend uniquement du nombre et non de la nature des particules en suspension.

Protéine fluorescente verte : ou GFP (green fluorescent protein). Protéine fluorescente de la méduse *Aequoria victoria* qui émet une lumière verte lorsqu'elle est excitée par de la lumière bleue. Elle permet de visualiser le taux d'expression et la localisation des protéines avec lesquelles on la fusionne par recombinaison génétique.

Protéines pro-apoptotiques : molécules libérées par la mitochondrie comme le cytochrome c et l'AIF (« apoptosis inducing factor ») ou caspases 2, 3 et 9 intervenant au cours du processus de mort cellulaire programmée (apoptose).

Protéine recombinante : protéine produite par une cellule à la suite d'une recombinaison d'ADN.

Rotamère : isomère produit par la rotation d'un groupe d'atomes autour d'une liaison sigma ; il s'agit d'un conformère, et non d'un stéréoisomère ou d'un énantiomère (voir fiches 10 à 13).

Spectrométrie de masse : technique d'analyse permettant de distinguer les molécules par leur masse atomique.

Thermodynamique des processus irréversibles : théorie régissant le déroulement de ces processus dans le temps.

Titine : la titine ou connectine est une protéine géante des fibres musculaires, constituée d'une chaîne unique, longue de 27 000 résidus d'aminoacides. C'est la plus longue chaîne polypeptidique connue, d'où le nom, titine, inspiré de Titan, nom donné dans la mythologie grecque aux divinités géantes qui ont précédé les dieux de l'Olympe.

Transformation de Legendre : opération mathématique qui transforme une fonction définie par sa valeur en un point en une deuxième fonction définie par sa tangente en ce point.

Xénobiotique : molécule étrangère à l'organisme dans lequel elle se trouve, *a priori* considérée comme toxique. Il peut s'agir de polluants (pesticides) ou de médicaments.

Index

Pour se repérer plus facilement, les occurrences principales des mots de l'index sont en gras dans le texte.

Symboles

A

B